



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“COMPROBACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE UNA CREMA A
BASE DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA
DE CABALLO (*Equisetum arvense*) EN HERIDAS INDUCIDAS EN RATONES
(*Mus musculus*)”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

JANNETH PATRICIA PROAÑO ESCUDERO

**RIOBAMBA – ECUADOR
2013**

DEDICATORIA

*A mis padres por su apoyo incondicional en todo momento
A mi hijo y Esposo por ser la razón de mí vivir y el impulso
para seguir adelante
A mis familiares por estar siempre a mi lado brindándome su
tiempo y apoyo.*

AGRADECIMIENTO

A papito DIOS por guiarme y ayudarme a cumplir con esta meta.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y a la Escuela de Bioquímica y Farmacia por la formación profesional, ética y moral.

Al Dr. Oswaldo Duque (Director de tesis), Dr. Carlos Espinoza (Colaborador de tesis) por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente Tesis

A mis queridas amigas Majito, Nataly, Paola, Glenda gracias por su apoyo y compartir todo en este camino para la culminación de mi carrera.

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “COMPROBACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE UNA CREMA A BASE DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*)

EN HERIDAS INDUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)”, de responsabilidad del(a) señorita egresada Janneth Patricia Proaño Escudero, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez
DECANO FACULTAD DE
CIENCIAS

Dr. Iván Ramos
DIRECTOR DE LA ESCUELA

Dr. Oswaldo Duque
DIRECTOR DE LA TESIS
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Dr. Carlos Espinoza
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Dr. Carlos Espinoza
DIRECTOR CENTRO DE
DOCUMENTACIÓN

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, Janneth Patricia Proaño Escudero, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

JANNETH PATRICIA PROAÑO ESCUDERO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

% H	Por ciento de Humedad
+	Baja eficiencia
++	Eficiencia
+++	Alta Eficiencia
AT	Actividad Terapéutica
A	Aspecto
BACB/c	Ratón Albino
C°	Grados Centígrados
conc.	Concentrado
cm.	Centímetros
D 25°C	Densidad a 25°C.
E ₁	Extracto al 50%,30%, 20%
E ₂	Extracto al 30%,50%, 20%
E ₃ .	Extracto al 20%,30%, 50%
g	Gramos
h	Horas
HCl	Ácido Clorhídrico
kg	Kilogramo
kg/Ha	Kilogramo por cada hectárea
L	Litro
min.	Minutos
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MP	Materia Prima
NMP	Número mas probable
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	Potencial de hidrógeno
rpm	Revoluciones por minuto
s.t	Sólidos totales
T	Temperatura
t	Tiempo
TEA	Trietanolamina
TLC	Cromatografía en capa fina
UFC	Unidad formadoras de colonia
UV	Ultra Violeta
V	Viscosidad
W	Peso

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1	COMPONENTES DE LA PIE.....	1
1.1.1	EPIDERMIS.....	1
1.1.2	DERMIS.....	2
1.1.3	HIPODERMIS O TEJIDO SUBCUTÁNEO.....	3
1.2.	HERIDAS.....	3
1.2.1	SEÑALES.....	4
1.2.2	CLASIFICACIÓN DE LAS HERIDAS.....	4
1.2.3	REPARACIÓN DE LAS HERIDAS CUTÁNEAS.....	5
1.2.4	SECUENCIAS DE PROCESO DE CICATRIZACIÓN.....	6
1.2.4.1	PRIMERA FASE.....	7
1.2.4.2	SEGUNDA FASE.....	9
1.3	EPITELIZACIÓN DE LA PIEL.....	9
1.4	CICATRIZACIÓN.....	10
1.4.1	TIPOS DE CICATRIZACIÓN.....	11
1.5	FISIOPATOLOGÍA.....	12
1.6	FACTORES QUE RETARDAN LA CICATRIZACIÓN.....	13
1.7	COMPLICACIONES DE LA CICATRIZACIÓN.....	13
1.8	QUELOIDES.....	14
1.8.1	TRATAMIENTO.....	14
1.9	CREMAS.....	14
1.10	EXCIPIENTES.....	15
1.10.1	FORMA FÍSICOQUÍMICAS DE EXCIPIENTES.....	16
1.11	IMPORTANCIA DE LA FITOTERAPIA.....	17

1.11.1	EN DEFENSA DE LA FITOTERAPIA.....	18
1.12	ROMERO.....	19
1.12.1	ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.....	19
1.12.2	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.....	20
1.12.3	COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	20
1.12.4	PROPIEDADES TERAPEÚTICAS.....	21
1.13	MATÍCO.....	21
1.13.1	ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.....	21
1.13.2	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.....	21
1.13.3	COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	22
1.13.4	PROPIEDADES TERAPÉUTICAS.....	22
1.14	COLA DE CABALLO.....	23
1.14.1	ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.....	24
1.14.2	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.....	24
1.14.3	COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	24
1.14.4	PROPIEDADES TERAPÉUTICAS.....	25
1.15	EXTRACTOS VEGETALES.....	25
1.15.1	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	26
1.15.2	CLASIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES.....	26
1.15.3	OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.....	27
1.16	ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	28
1.16.1	RATONES DE LABORATORIO.....	28
1.16.2	CARACTERÍSTICAS.....	29
	CAPÍTULO II	
2.1	PARTE EXPERIMENTAL.....	30
2.2	RECURSO MATERIALES.....	30
2.2.1	MATERIA VEGETAL.....	30
2.2.2	EQUIPO.....	31
2.2.3	MATERIALES.....	31
2.2.4	REACTIVOS.....	32
2.2.5	MATERIAL BIOLÓGICO.....	33
2.3	MÉTODOS Y TÉCNICAS.....	34
2.3.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA VEGETAL.....	34
2.3.1.1	Determinación del contenido de humedad: Método gravimétrico...	34
2.3.1.2	Determinación de cenizas totales.....	34

2.3.1.3	Cenizas solubles en agua.....	35
2.3.1.4	Cenizas insolubles en ácido clorhídrico.....	35
2.3.1.5	Determinación de sustancias solubles.....	36
2.3.2	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.....	37
2.3.2.1	Extractos de romero (<i>Rosmarinusofficinalis</i>), matico (<i>Piperaduncum</i>) y Cola de caballo (<i>Equisetum arvense</i>).....	37
2.3.3	CONTROL DE CALIDAD DE EXTRACTOS.....	37
2.3.4	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA DROGA VEGETAL, EXTRACTOS SIMPLES Y COMBINADOS DE ROMERO (<i>Rosmarinusofficinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>).....	39
2.3.4.1	Ensayo de Drangendorff, Mayer o Wagner.....	40
2.3.4.2	Ensayo de Shinoda (Flavonoides).....	40
2.3.4.3	Ensayo de Liberman-Buchard (Triterpenos y/o Esteroides).....	40
2.3.4.4	Ensayo de Borntrager (Quinonas).....	41
2.3.4.5	Ensayo de Baljet (Cumarinas).....	41
2.3.4.6	Ensayo de espuma (Saponinas).....	41
2.3.4.7	Ensayo de Cloruro Férrico.....	41
2.3.4.8	Ensayo de Resinas.....	42
2.3.4.9	Ensayo de Fehling (Azúcares reductores).....	42
2.3.4.10	Ensayo de Mucílagos	42
2.3.4.11	Ensayo de Antocianinas.....	42
2.3.5	CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (FLAVONOIDES).....	42
2.3.6	CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES.....	43
2.3.7	DETEMINACIÓN DE LOS TIPOS DE EXCIPIENTES Y LA FORMULACIÓN DE LA CREMA CICATRIZANTE.....	44
2.3.8	CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTO TERMINADO.....	46
2.3.8.1	Control de calidad de la crema.....	46
2.3.9	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	47
2.3.9.1	Método de conteo de aerobios mesófilos totales en placa.....	47
2.3.9.2	Determinación de Coliformestotales.....	48
2.3.9.3	Hongos y levaduras (placa petrifilm).....	48
2.3.10	EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE ROMERO, MATICO Y COLA DE CABALLO EN RATONES	49

2.3.10.1	Prueba de sensibilidad en piel de ratones.....	49
2.3.10.2	Evaluación de la actividad cicatrizante.....	49
	CAPÍTULO III	
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
3.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piper aduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>).....	50
3.2	DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS.....	51
3.2.1	DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA.....	54
3.2.2	PARÁMETROS FÍSICOS.....	55
3.3	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	56
3.4.	DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES.....	58
3.5	CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES.....	60
3.6	CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO.....	60
3.6.1	DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA.....	60
3.6.2	DETERMINACIÓN DEL pH DE LA CREMA CICATRIZANTE	61
3.6.3	DETERMINACIÓN DE LA EXTENSIBILIDAD DE LA CREMA	62
3.6.5	TEMORESISTENCIA.....	62
3.6.6	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	63
3.7	ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HICROALCOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piper aduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>).....	64
3.8	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	66
	CAPÍTULO IV	
4.	CONCLUSIONES.....	71
	CAPÍTULO V	
5.	RECOMENDACIONES.....	73
	CAPÍTULO VI	
6	RESUMEN.....	74
	CAPÍTULO VII	
7	BIBLIOGRAFÍA.....	75
	CAPÍTULO VIII	
8	ANEXOS.....	84

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LA DROGA CRUDA. LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.....	51
CUADRO No. 2	RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE CENIZAS DE LAS DROGAS CRUDAS. LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.....	52
CUADRO No. 3	RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE SUSTANCIAS SOLUBLES DE LAS DROGAS CRUDAS. LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.....	53
CUADRO No. 4	RESULTADOS DE LA DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.....	54
CUADRO No. 5	RESULTADOS DE PARÁMETROS FÍSICOS DE CALIDAD DE EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.....	55
CUADRO No. 6	RESULTADOS DE GRUPOS FITOQUÍMICOS ENCONTRADOS EN LA DROGA CRUDA Y LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.....	56
CUADRO No. 7	RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE R _f DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. DICIEMBRE 2012.....	58
CUADRO No. 8	RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES (%QUERCETINA) EN LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. DICIEMBRE 2012.....	60
CUADRO No. 9	RESULTADOS DE LA DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>) LABORATORIO DE	

	FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2012.....	60
CUADRO No. 10	RESULTADOS DEL pH DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinusofficinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>).LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2012.....	61
CUADRO No. 11	RESULTADOS DE LA EXTENSIBILIDAD DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinusofficinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>) DE LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2012.....	61
CUADRO No. 12	RESULTADOS DE LA VISCOSIDAD DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinusofficinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2012.....	62
CUADRO No. 13	RESULTADOS DE LA TERMORESISTENCIA DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinusofficinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>)LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2013.....	62
CUADRO No. 14	RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA CICATRIZANTE A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinusofficinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>)LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2013.....	63
CUADRO No. 15	ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (<i>Rosmarinusofficinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. FEBRERO 2013.....	64
CUADRO No. 16	ANÁLISIS ESTADÍSTICO, APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO DE LA CREMA EN RATONES. FEBRERO 2013.....	66
CUADRO No. 17	ANÁLISIS ESTADÍSTICO, APLICADO A LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS FARMACOLÓGICO POR	

	COMPARACIONES MULTIPLES. FEBRERO 2013.....	67
CUADRO No. 18	PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN DE CADA TRATAMIENTO CON RESPECTO AL CONTROL (-). ESPOCH. FEBRERO 2013.	69

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	ANÁLISIS ESTADÍSTICO, DE LA DISMINUCIÓN DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN `APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO DE LA CREMA EN RATONES. FEBRERO 2013.....	64
GRÁFICO No. 2	ANÁLISIS ESTADÍSTICO, DE LA MEDIDA DE MEDIAS APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO DE LA CREMA EN RATONES. FEBRERO 2013.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°. 1	COMPONENTES DE LA PIEL.....	3
FIGURA N°. 2	CLASIFICACIÓN DE LAS HERIDAS.....	4
FIGURA N°. 3	FASES DE LA HERIDA	5
FIGURA N°. 4	PROCESO DE CURACIÓN.....	6
FIGURA N°. 5	RESPUESTA TISULAR AL DAÑO.....	7
FIGURA N°.6	CURACIÓN DE LA HERIDA	9
FIGURA N°. 7	TIPOS DE CICATRIZACIÓN.....	11
FIGURA N°. 8	FISIOLOGÍA DE HERIDA	12
FIGURA N°.9	ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	19
FIGURA N°.10	MATICO (<i>Piper aduncum</i>).....	21
FIGURA N°.11	COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>).....	23

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	RATÓN (<i>Mus musculus</i>).....	28
FOTOGRAFÍA No. 2	CROMATOGRAFÍA DE FLAVONOIDES.....	59
FOTOGRAFÍA No. 3	TAMIZAJE FITOQUÍMICO. ESPOCH. LABORATORIO FITOQUIMICA.....	84
FOTOGRAFÍA No. 4	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS. ESPOCH. LABORATORIO FITOQUIMICA.....	84
FOTOGRAFÍA No. 5	CONTROL DE CALIDAD DE LA CREMA. ESPOCH. LABORATORIO FITOQUIMICA	85
FOTOGRAFÍA No. 6	PROCESO DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE. ESPOCH. LABORATORIO FITOQUIMICA.	85

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA DROGA CRUDA, EXTRACTOS SIMPLES Y COMBINADOS DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>)....	84
ANEXO No. 2	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>).....	84
ANEXO No. 3	CONTROL DE CALIDAD DE LA CREMA A BASE DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>), MATICO (<i>Piperaduncum</i>) Y COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>).....	85
ANEXO No. 4	INDUCCIÓN AL COMPROBACIÓN DE ACTIVIDAD CICATRIZANTE EN RATONES.....	85

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas ancestrales, la gran mayoría de nosotros, en algún momento, hemos escuchado o incluso utilizado alguna de ellas. Los expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) la definen como toda especie vegetal, de la cual toda o una parte de la misma está dotada de una actividad farmacológica. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) la planta es usada para aliviar, prevenir o curar alguna enfermedad o alterar un proceso fisiológico y patológico. Teniendo en cuenta estos conceptos podemos hablar sobre las plantas (26).

El hombre a través de la evolución cultural ha aprendido a aprovechar los recursos naturales para satisfacer sus necesidades; logrando establecer, mediante pruebas de ensayo y error que las plantas son adecuadas para la alimentación, construcción, como utensilios o adornos y aquellas que intoxican, matan o curan (26).

La historia de la crema empieza con un descubrimiento radical Eucerit el primer emoliente agua en aceite. Esto hizo posible crear por primera vez una emulsión estable de este tipo. En 1911, el dueño de Beiersdorf Oskar Troplowitz inició, en estrecha cooperación con el químico Isaac Lifschütz y el dermatólogo Paul Unna, el desarrollo de una crema para la piel basada en esa emulsión. En Diciembre de ese año, la primera crema de larga duración para la piel apareció en el mercado. Troplowitz la llamó NIVEA, del latín "nivius", que quiere decir "blanca-nieve". La primera lata tenía un diseño art nouveau de acuerdo a la tendencia de la época. Esta crema, acompañaba la imagen de la mujer de la época, frágil y delicada.

Uno de los cicatrizantes naturales más estudiados es el árbol conocido Sangre de Grado *Crotonlechleri* L. (Euphorbiaceae) de la jungla peruana. Diversos estudios in vivo e in vitro demuestran dicho efecto, siendo el alcaloide tapsina identificado como el responsable de dicho evento. (30)

Los antiguos habían dado al romero el nombre de *hierba de las coronas* porque se entrelazaba en éstas con el mirto y el laurel. En algunos países, se coloca aún una ramita de romero en manos de los difuntos o se planta sobre su tumba. En el lenguaje de las flores, el romero es símbolo de la buena fe y la franqueza. (46)

En Europa en la Edad Media circulaba un tratadillo sobre las virtudes del romero, atribuido a varios autores (por ejemplo Arnaldo de Villanova), que contenía varias recetas para mantener la salud. El romero es uno de los ingredientes en la receta del bálsamo de Fierabrás de Don Quijote (I: XVII). (46) (47)

El uso de esta planta romero en problemas digestivos y reumáticos tiene alguna evidencia científica. También es muy importante su uso antiséptico ya que destruye gérmenes en la piel o mucosas (22)

Las plantas como el Cola de caballo (*Equisetum arvense*), Malva (*malvasilvestris*), Perejil (*petroselinumsativum*), Limón (*citrus limón*), que se utilizan para las enfermedades que se clasifican como “cálidas”; entre la población andina se usan en conjuntivitis y otras enfermedades oculares, fiebre, inflamaciones en general, infecciones de la piel, anexitis, quemaduras y heridas especialmente cuando están inflamadas. (17)

Es usual en nuestro medio tanto a nivel regional como en espacios menores de terreno un mismo nombre usual se aplica a diferentes especies botánicas, por influencia de las diferentes nacionalidades indígenas y otros factores. Un ejemplo es el caso del matico en el Ecuador, que al encontrar y coleccionar las especies a lo largo de todo el callejón interandino, se registraron 14 especies diferentes, siendo las más conocidas *Piperaduncum*(Piperaceae), *Aristeguietia glutinosa*(Asteraceae) y *Lepechinia betonicifolia*. (27)

Existen estudios realizados en México para esta actividad como es “DETERMINACION DEL EFECTO CICATRIZANTE DEL EXTRACTO ACUAETANOLICO DE (*bocapaprocumbens*) en la LÍNEA CELULAR 3T3 DE FIBROBLASTO DEL RATÓN”, también “Comprobación del Efecto Cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R et P., ASPECTOS ETNOFARMACOLÓGICOS, BOTÁNICOS Y ESTUDIO QUÍMICO “(30)

En la facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH se han realizado el siguiente estudio: ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE TINTURA Y GEL CICATRIZANTE Y ANTIFLAMATORIA A BASE DE CHILCA (*Baccharis latifolia*) Y HIERBAMORA (*Solanum nigrum*) por BQF. Sandra Piedad Aragadvay Yungan (34)

Comprobación del efecto cicatrizante de tinturas a base de acíbar de aloe (*Aloe barbadensis*) y matico (*Eupatorium glutinosum*) en heridas de castración a lechones (*Sus scrofa domestica*). Comprobación del efecto cicatrizante de geles elaborados a base de propóleo y caléndula en heridas de conejo. Importantes investigaciones realizadas descubriendo nuevos principios activos para contribuir a la salud.

Los objetivos para mi investigación fueron: Comprobar el efecto cicatrizante mediante la elaboración de una crema tópica a base de Romero (*Rosmarinus officinalis*), Matico (*Piper aduncum*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense* L) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*). Realizar un tamizaje fitoquímico de la materia prima. Obtener los extractos a 3 concentraciones distintas por extracción hidroalcohólica. Elaborar una crema cicatrizante con los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*), matico (*Piper aduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense* L). Realizar su control de calidad de la crema cicatrizante. Inducir las heridas en la región escapular. Comprobar la actividad cicatrizante de la crema en los ratones con las diferentes concentraciones. Comparar la efectividad cicatrizante con un producto comercial. Evaluar estadísticamente el efecto de la crema cicatrizante y la hipótesis del trabajo propuesta fue el extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*), matico (*Piper aduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense* L) presenta efecto cicatrizante en heridas cutáneas.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.

1.1 COMPONENTES DE LA PIEL

La piel es el órgano más grande del cuerpo sin el cual la vida es imposible, combinado con sus estructuras accesorias como pelos, glándulas, etc., ocupa el 20% del peso del cuerpo. Su principal función es protegerlo del ambiente ya que constituye una barrera protectora contra microorganismos, rayos UV, pérdida de fluidos, estrés de fuerzas mecánicas y al mismo tiempo sirve como principal órgano sensitivo o de comunicación hacia el exterior, ya que recoge información a través de una extensa red de neuronas y terminales nerviosas que aportan información sobre presión, vibración, dolor y temperatura; con ellos los peligros externos se detectan y pueden emprenderse acciones para evitarlos y minimizarlos. (1)

La piel está formada por tres capas principales: la capa superficial o epidermis, la capa profunda o dermis y el tejido subcutáneo o hipodermis. (1)

1.1.1 EPIDERMIS

La epidermis es una capa celular, sin nervios, sentada en una membrana basal y muestra estratificación vertical. Es un epitelio versátil cuyas células se multiplican, diferencian y se renuevan cada 28 días. Está formada por melanocitos no pigmentados, linfocitos, células de Langerhans que funcionan como células dendríticas e inmunes, de Merkel que

actúan como receptores del tacto y como principal célula de ésta capa de queratinocitos (4)(15)

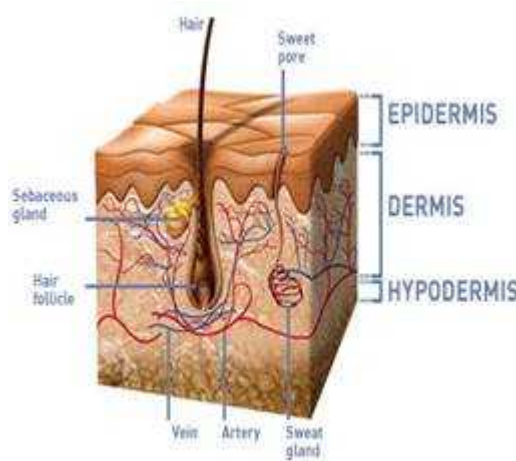
Los queratinocitos productores de queratina, están en diversos estadios de maduración conformando cinco estratos: estrato germinativo donde hay células en constante división que reemplazan a las superficiales; estrato espinoso con queratinocitos recién divididos con espinas proyectadas; estrato granuloso, por su aspecto granular ya que están comenzando un proceso de transformación gradual cambiando células redondas y nucleadas en escamas planas y ricas en queratina; estrato lúcido, capa clara de células conteniendo eleidina que se convierte en queratina en células muertas las cuales se mueven al último estrato más superficial que recubre el cuerpo denominado estrato córneo. Las funciones de la epidermis son la de impermeabilidad relativa que provee protección contra daño del medio ambiente y contra los daños mecánicos como traumatismos (4)(15)

1.1.2 DERMIS

La dermis es un tejido eminentemente fibroso, donde se encuentra los anexos cutáneos como los folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas. Es una capa de tejido conectivo irregular, contiene proteínas dérmicas como fibras de colágeno, elastina, reticulita, fibronectina así como varios glicosaminoglicanos y ácido hialurónico que conforman la matriz; estas proteínas y carbohidratos son secretadas por la célula principal de la dermis, los fibroblastos. La elastina le aporta elasticidad, la colágena su fuerza de tensión y la matriz provee un medio semi-líquido, que permite la orientación del tejido conectivo y las células, la difusión de los nutrientes y O₂. Así mismo es el andamio para la migración celular, de nutrientes y de requerimientos para la reparación de heridas. Sus funciones son protectoras e inmunológicas, es la segunda línea de defensa mecánica contra traumatismos, es el sostén de la piel y es fundamental para la termorregulación y lubricación (2) (15)

1.1.3HIPODERMIS O TEJIDO SUBCUTÁNEO

Bajo la dermis se encuentra el tejido hipodérmico, es una capa de sostén o tejido graso subcutáneo que conecta todo lo que está sobre y bajo la dermis con el músculo. Contiene macrófagos, fibroblastos y células cebadas, así como nervios, vasos linfáticos y sanguíneos que irrigan la piel. (2)(15)



FUENTE: COMPONENTES DE LA PIEL <http://www.bioderma.com/es/a-la-escucha-de-tu-piel/la-piel-es-un-organo.html> (26/06/12)

FIGURA N 1. COMPONENTES DE LA PIEL.

La piel al ser un órgano externo que recubre todo el cuerpo está expuesto a una serie de daños, como lesiones cutáneas o heridas, las cuales se pueden clasificar según la capa afectada. Las heridas superficiales afectan solo a la epidermis, las de profundidad parcial afectan la dermis y las de profundidad total llegan hasta el tejido subcutáneo. (2)

1.2. HERIDAS

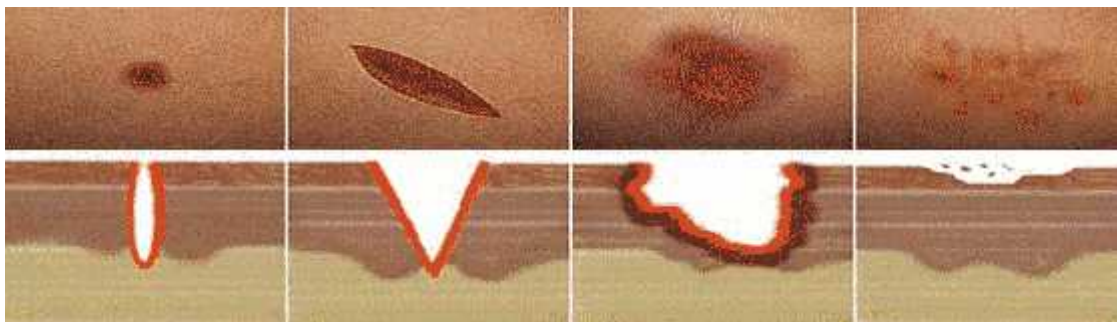
Son lesiones que producen pérdida de la integridad de los tejidos blandos. Son producidas por agentes externos, como un cuchillo o agentes internos como un hueso fracturado; pueden ser abiertas o cerradas, leves o complicadas. (13)

1.2.1 SEÑALES

Las principales son:

- Dolor
- hemorragia
- destrucción
- daño de los tejidos blandos. (25)

1.2.2 CLASIFICACION DE LAS HERIDAS



FUENTE: CLASIFICACIÓN DE HERIDAS <http://salud09002623.galeon.com/productos2108004.html> (26/06/12)

FIGURA N°2 CLASIFICACIÓN DE LAS HERIDAS

Heridas abiertas: En este tipo de heridas se observa la separación de los tejidos blandos. Son las más susceptibles a la contaminación. (2)

Heridas cerradas: Son aquellas en las que no se observa la separación de los tejidos, generalmente son producidas por golpes; la hemorragia se acumula debajo de la piel (hematoma), en cavidades o en viseras. Deben tratarse rápidamente porque pueden comprometer la función de un órgano o la circulación sanguínea. (13)

Heridas simples: Son heridas que afectan la piel, sin ocasionar daño en órganos importantes. Ejemplo: Arañazo o cortaduras superficiales. (13)

Heridas complicadas: Son heridas extensas y profundas con hemorragia abundante; generalmente hay lesiones en músculos, tendones, nervios, vasos sanguíneos, órganos internos y puede o no presentarse perforación visceral.(2)(15)

1.2.3 REPARACIÓN DE HERIDAS CUTÁNEAS

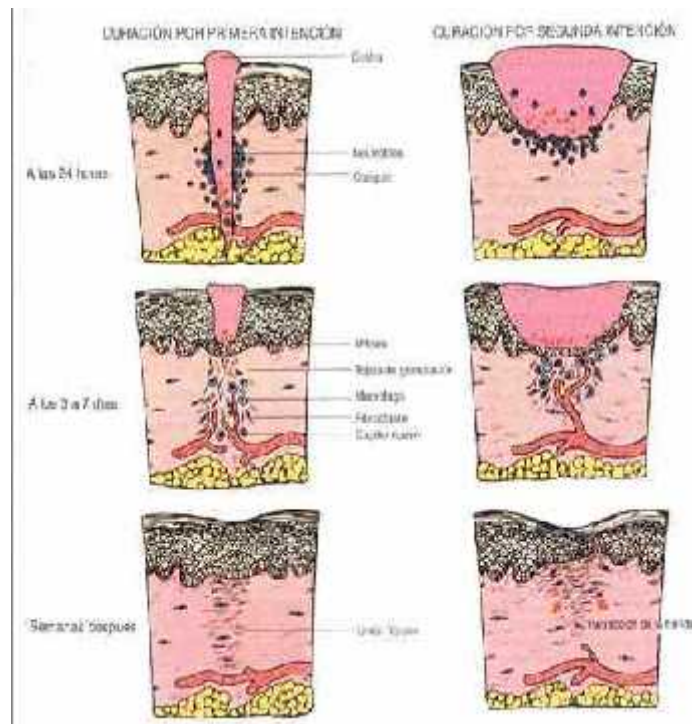


FUENTE: Heridas y curación de heridas <http://www.curitas.com.ar/technology/wound-healing-and-wounds> (26/08/12)

FIGURA N°3 FASES DE LA HERIDA

Los mecanismos de reparación de heridas cutáneas se ponen en funcionamiento tras una lesión que altere la continuidad de la superficie. En el proceso se han identificado tres fases: la inflamatoria, la proliferativa y la de remodelación tisular. En la fase inflamatoria hay liberación local de células y compuestos transportados por la sangre y la activación del sistema de coagulación. En la proliferativa hay formación de tejido nuevo, gracias al crecimiento y migración celular y la participación de diversas proteínas de adherencia. La remodelación tisular corresponde a la última fase, cuando se desarrolla un tejido estable, similar al existente previo a la lesión, conocido como cicatriz. La participación de factores de crecimiento, citoquinas y diversos componentes sanguíneos es fundamental para la restauración funcional del área afectada. (25)

1.2.4 SECUENCIAS DEL PROCESO DE CURACIÓN



FUENTE: CURACIÓN DE LA HERIDA http://www10.uniovi.es/anatopatodon/modulo5/tema04_regeneracion/010curacion.htm (26/08/12)

FIGURA N°4 PROCESO DE CURACIÓN

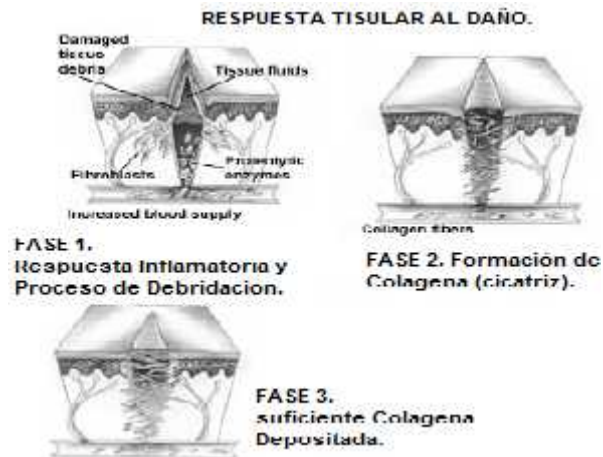
Después de producida la herida por el agente traumático, en el foco lesional se encuentran tejidos total o parcialmente desvitalizados, sangre extravasada, cuerpo extraños y gérmenes. (25)

La respuesta local frente a estas lesiones, que suponen una ruptura de la homeostasis en el desarrollo progresivo del estado de inflamación aguda, va a cumplir dos objetivos:

1. Limpieza de foco traumático y acumulación del material necesario para la reparación.
2. Formación de colágeno y aumento de la resistencia a la separación de los bordes de la herida.

La Epitelización se produce precoz o tardíamente, dependiendo de si la herida está cerrada o abierta. (16)(44)

1.2.4.1 Primera fase



FUENTE: PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE UNA HERIDA <http://sadamannualsuturas.blogspot.com/2010/12/proceso-de-cicatrizacion-de-una-herida.html> (26/08/12)

FIGURA N° 5 RESPUESTA TISULAR AL DAÑO

A. Respuesta Vascular

La respuesta inmediata en el área afectada es una vasoconstricción transitoria (5 a 10 minutos), producida en parte por la liberación de tromboxano, seguida de una vasodilatación activa y un aumento de la permeabilidad vascular, localizada en el lado venoso de la microcirculación.(13)

La filtración del líquido plasmático provoca un edema intersticial, rico en proteínas, anticuerpos, complemento, agua y electrolitos.(13)

La responsabilidad de este aumento de la permeabilidad vascular, recae en las aminas vasoactivas (histamina, serotonina), en las cininas y en las prostaglandinas (PG). La histamina es liberada por los mastocitos y también por las plaquetas, no durando su acción más de 30 minutos.(13)

B. Movimientos Celulares

Coincidiendo con la vasodilatación se producen los fenómenos de marginación, adherencia y diapedesis de los granulocitos neutrófilos, que son las primeras células que aparecen en el foco traumático. Los leucocitos, atraídos químicamente (quimiotaxis), comienzan la acción fagocitaria de los gérmenes contaminantes y de los cuerpos extraños.(4)

Esta fagocitosis exige una preparación previa que se inicia con la opsonización de las bacterias y las células destruidas también son eliminadas por Autolisis o Heterolisis. Si las lesiones necróticas de los tejidos en la herida son extensas, con abundantes cuerpos extraños y fuerte contaminación, la limpieza de la herida será difícil que cumpla con la acción fagocitaria, a pesar del esfuerzo que supone la llegada posterior de los macrófagos.(4)

El conjunto de leucocitos muertos y a medio destruir repletos de bacterias y de detritos en el seno del exudado inflamatorio, constituye pus (herida supurada), lo que significa el fracaso de la limpieza espontánea. Los granulocitos no son esenciales para la fase reparativa de una herida, ya que ha sido demostrado que su anulación no inhibe el proceso de la curación. (4)

Si hay contaminación, los neutrófilos son necesarios, ya que la reparación no se realiza hasta que la infección esté controlada. Los movimientos celulares en el foco traumático terminan con la aparición del fibroblasto, que se detecta en las primeras 24, horas alcanzando un número muy elevado en las 72 horas. La función de los fibroblastos, células básicas de la reparación, es sintetizar los dos componentes básicos del tejido conectivo: el colágeno y los mucopolisacáridos de la sustancia fundamental. (19)

Los vasos capilares neoformados se proyectan como evaginaciones, que sirven de eje a un tejido conectivo muy joven constituido por fibroblastos, dispuestos en posición perpendicular a aquél. El conjunto de brotes capilares constituye el mamelonangioblástico, cuyo resultado es el tejido de granulación, sólo visible en las

heridas que curan por segunda intención.(25)

1.2.4.2 Segunda fase

Formación de colágeno y aumento de resistencia a la separación de los bordes de la herida a partir del quinto día del proceso de curación, la unidad básica del colágeno es el tropocolágeno, a partir del cual se constituye aquél por agregación polimérica.(25)

En la estructura del colágeno son características:

- a. La existencia de 3 cadenas lineales péptidas de igual longitud en posición helicoidal.
- b. La presencia de glicina en cada tercera posición a lo largo de la cadena (Gly - X- Y)
- c. La presencia de hidroxilisina e hidroxiprolina en la posición Y gama de la cadena.(25)

Desde el punto de vista bioquímico, la síntesis del colágeno se complica porque uno de sus aminoácidos básicos, la hidroxiprolina, no puede ser incorporado directamente a la molécula del colágeno, sino tras la hidroxilación previa del aminoácido precursor. Cuando el tropocolágeno se ha polimerizado es completamente soluble en agua fría, mientras que la molécula de colágeno mantiene una cohesión interna mediante enlace intramolecular. A este proceso se le denomina de la maduración del colágeno, sólo destruible por la ebullición, convirtiéndose en gelatina.(25)

1.3 Epitelización de la Herida



FIGURA N°6 CURACIÓN DE LA HERIDA

En las Heridas Cerradas: (Curación por primera intención). La proliferación del epitelio se inicia rápidamente y en 48 horas. El rellenado es completo entre ambos bordes cuando éstos han sido suturados, cuando todavía no hay formación de colágeno en el seno de la herida. Ante el estímulo de la lesión se pone en marcha la actividad mitótica de las células basales fijas y de algunas del Stratum Spinosum. (9)

La Migración Celular: Parece ser inducida por un mecanismo feed-back negativo, el movimiento de las células epiteliales se hace en la superficie a una velocidad de varios mm en 24 hora. (9)

La Migración Epitelial: Penetra en la V que forman los bordes de la herida y también por los orificios de sutura paralelos al borde de la herida. (9)

La Queratinización: Estimula una reacción inflamatoria del tejido conectivo y ha sido confundida con infecciones en el trayecto del hilo.

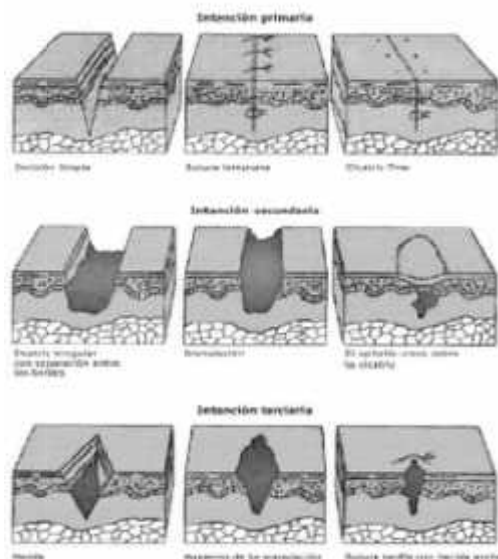
El Estado de Shock: Inhibe la mitosis epidérmica, entre otros motivos por la acción de las catecolaminas y los corticoides que bloquean la proliferación de estas células.

Contracción: Se da en una herida que está curando por segunda intención con el tejido de granulación a la vista, en virtud del cual sus bordes se acercan concéntricamente disminuyendo el área granulante. Este proceso es independiente de la epitelización, se desarrolla por un mecanismo activo situado a nivel del tejido de granulación. (13)

1.4 CICATRIZACIÓN

Es la cura de una herida a expensas del tejido conjuntivo o por regeneración de los propios tejidos afectados, es decir es la masa de tejido conjuntivo esencialmente fibroso revestido por la epidermis neoformada que ocupa una antigua solución de continuidad producida por el traumatismo. (16)(35)

1.4.1 TIPOS DE CICATRIZACIÓN



FUENTE: TIPOS DE CICATRIZACIÓN <http://gerard12ga.blogspot.com/2012/09/tipos-de-cicatrizacion-1ra-2da-y-3ra.html> (26/08/12)

FIGURA N° 7 TIPOS DE CICATRIZACIÓN

Por Primera Intención.- Es una forma de cicatrización primaria que se observa en las heridas operatorias y las heridas incisivas. (16)

Este proceso requiere de las siguientes condiciones:

- Ausencia de infección de la herida
- Hemostasia perfecta
- Afrontamiento correcto de sus bordes
- Ajuste por planos anatómicos de la herida durante la sutura(35)

Por Segunda Intención.- Ésta ocurre en forma lenta y a expensas de un tejido de granulación bien definido, dejando como vestigio una cicatriz larga, retraída y antiestética. Por lo general ocurre cuando hay pérdida de sustancia o dificultad para afrontar los bordes de una herida o también cuando existe un compromiso infeccioso en la herida. (16)

Cicatrización por Tercera Intención.- Así denominada cuando reunimos las dos

superficies de una herida, en fase de granulación, con una sutura secundaria. (4)

Cicatrización por Cuarta Intención.- Cuando aceleramos la cura de una herida por medio de injertos cutáneos.(4) (25)

1.5 FISIOPATOLOGÍA

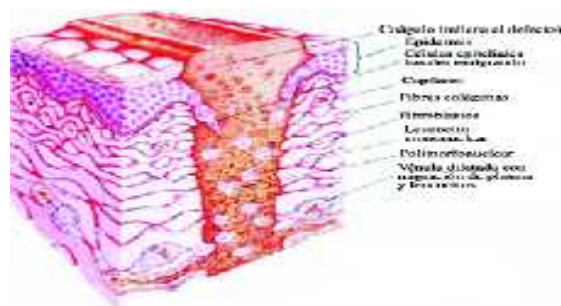
Cicatrización Aséptica.- Sigue las etapas ya descritas en la biología de las heridas, si es una incisión quirúrgica se dará con un mínimo de traumatismo. La unión de los bordes también curara rápidamente y con escasa fibrosis conjuntiva. (13)

Cicatrización Séptica.- Cuando la infección complica la evolución de la herida, entonces la cicatrización se torna prolongada, pudiendo demorar semanas o meses.(13)

Fases de la Cicatrización

- Aglutinación con reacción inflamatoria,
- Organización con hiperemia,
- Fibrosis con isquemia. (15)

Características Histológicas de las Heridas:



FUENTE: CICATRIZACIÓN [http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0cirugia--00-0---0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-11-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-00-00&a=d&c=cirugia&cl=CL3.1&d=HASH01da9e09d16fd2eb7f3a351e.5.9\(26/08/12\)](http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0cirugia--00-0---0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-11-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-00-00&a=d&c=cirugia&cl=CL3.1&d=HASH01da9e09d16fd2eb7f3a351e.5.9(26/08/12))

FIGURA N°8 FISIOLÓGIA DE HERIDA

- La epidermis se presenta lisa sin el festoneado de las papilas, no posee glándulas sudoríparas, ni tampoco formaciones pilosebáceas.

- Tejido Conjuntivo está formado por una serie de planos fibrosos paralelos, éstos a su vez son cruzados por paquetes de fibras perpendiculares a la epidermis.
- El tejido de fibrosis cicatricial encierra elementos celulares como fibroblastos, células de tipo linfático y leucocitos, con abundantes polimorfonucleares. Estos elementos van desapareciendo a medida que la cicatriz envejece.(15)(25)

1.6 FACTORES QUE RETARDAN LA CICATRIZACIÓN

Factores de acción local:

- Infección,
- Cuerpos extraños,
- Hematomas,
- Movilización,
- Tensión de la herida por la sutura,
- Edema,
- Vascularización,
- Curaciones Repetidas.- La repetición de las curaciones a pequeños intervalos puede perjudicar la cicatrización por la remoción de los elementos celulares por la propia gasa.(4)(9)

Factores de Acción General:

- Hipoproteinemia,
- Hipoavitaminosis C,
- Alergias,
- Infecciones
- Diabetes,
- ACTH-Cortisona.(4)

1.7 COMPLICACIONES EN CICATRIZACIÓN

- Alteraciones de la Cicatrización.- Constataremos la formación de queloides,

hipertrofia, plastomas, y ulceración de la cicatriz.

- Alteraciones de la vecindad.- Sinequias, anquilosis, adherencias viscerales postoperatorias.(15)

1.8 QUELOIDES

Definición.- Son lesiones proliferativas benignas, de crecimiento exagerado que sobresalen en la piel, por acumulación de colágeno, que se desarrolla dentro del proceso de cicatrización normal. En la mayoría de los casos esta formación cicatrizal es la consecuencia inmediata de traumatismo de todo orden y otras veces, las menos, se trata de minúsculas cicatrices consecutivas a pequeñas heridas o infecciones de la piel que pudieron pasar inadvertidas; de ahí que toda cicatriz traumática o inflamatoria de la piel sea susceptible de volverse queloide.(22)

Algunas regiones de la piel en el cuerpo humano parecen especialmente predispuestas al queloide, en orden de frecuencia, está la piel que cubre el tórax en las mujeres, el cuello, los brazos. La raza negra presenta una gran predisposición a este tipo de lesiones proliferativas y con respecto a la edad, el grupo etáreo con mayor incidencia está entre los 10 y 30 años.(15)

1.8.1 TRATAMIENTO

Radioterapia.- Este tratamiento, bien conducido, producirá la regresión espontánea de los queloides; igualmente, el buen uso de los corticoides de depósito aplicados directamente sobre el queloide, tiende a desaparecer los signos de irritación y posteriormente aplanan el queloide. (25)

Cicatriz Hipertrófica.- Tiene como característica principal que no sobrepasa los límites de lesión previa, en cambio sí puede mejorar espontáneamente, luego de 6 meses a un año de producida la cicatriz.(25)

1.9 CREMAS

Las cremas son preparaciones homogéneas y semisólidas consistentes en sistemas

deemulsión opacos. Su consistencia y sus propiedades dependen del tipo de emulsión, bien sea agua /aceite (hidrófobas) o aceite/agua (hidrófilas) y la naturaleza de los sólidos de la fase interna. Las cremas están destinadas para su aplicación en la piel o ciertas mucosas con efecto protector, terapéutico o profiláctico, en particular cuando no se necesita un efecto oclusivo. (33)

Las cremas pueden ser:

Cremas hidrófobas: Son habitualmente anhidras y absorben sólo pequeñas cantidades de agua. Contienen agentes emulsificantes agua / aceite. (33)

Cremas hidrófilas: Contienen bases miscibles con agua. Los agentes emulsificantes son aceite /agua tales como jabones de sodio o trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados. Estas cremas son fundamentalmente miscibles con las secreciones cutáneas. (33)

Ungüentos: Los ungüentos son preparaciones homogéneas y semisólidas destinadas a la aplicación externa sobre la piel o las mucosas. Se utilizan como emolientes o para aplicar ingredientes activos en la piel con fines protectores, terapéuticos o profilácticos, cuando se desea obtener cierto grado de oclusión.(33) (34)

1.10 LOS EXCIPIENTES

Los excipientes son aquellas sustancias que acompañan al principio activo en el medicamento, que no están dotados de actividad farmacológica y que se usan para mejorar la apariencia, estabilidad, propiedades organolépticas y biodisponibilidad de las sustancias medicinales. (37)(38)

Son sustancias que actúan como disolventes, adhesivos, desintegradores, colorantes, aromatizantes, conservadores, estabilizantes y vehículos del fármacos. Se añaden al medicamento para mejorar su estabilidad, su presentación o para facilitar su preparación. Existe un número elevado de sustancias que se usan como excipientes, más de un millar. (37)(38)

Algunos ejemplos de las reacciones adversas son:

- El conservante antimicrobiano alcohol bencílico puede causar dermatitis de contacto y, en recién nacidos y por vía intravenosa, acidosis metabólica, encefalopatía y muerte.
- La sacarina puede dar reacciones cutáneas alérgicas.
- El gluten (se emplea como diluyente) puede agravar la enfermedad celíaca
- Los aerosoles contienen freones que pueden causar broncoconstricción.
- El edulcorante aspartamo puede causar cefalea, convulsiones o reacciones neuropsiquiátricas.(37)(38)

1.10.1 FORMAS FÍSICOQUÍMICAS DEL EXCIPIENTE

Desde el punto de vista fisicoquímico podrían agruparse los excipientes en:

- Sistemas monofásicos: por ejemplo las soluciones moleculares o verdaderas.
- Sistemas polifásicos: Soluciones coloidales, emulsiones y suspensiones.(37)

Soluciones verdaderas. Son dispersiones moleculares que se componen de líquidos, en general agua, en los que se han disuelto diversos principios sólidos; sales minerales, glúcidos, cristaloides varios, etc., u otros líquidos: alcohol, glicerina, glicoles, etc. Son muy usados en cosmética, entre las soluciones acuosas por ejemplo, las aguas aromáticas no destiladas, los extractos acuosos (por decocción, infusión, digestión o maceración). Entre las soluciones alcohólicas, de gran importancia, bastaría citar las tinturas y extractos de perfumes. Puede asimismo haber soluciones oleosas, mezclas moleculares de aceites miscibles entre sí (por ejemplo, aceites para masajes) o de aceites teñidos con colorantes liposolubles (simuladores del bronceado solar), etcétera(37)

Emulsiones. Son sistemas polifásicos líquidos o semisólidos, casi siempre de aspecto lechoso o cremoso, constituido por mezclas de dos líquidos no miscibles, siendo el ejemplo clásico y más común el agua y el aceite (incluyendo en este término las grasas y las ceras, vegetales, animales o minerales). Uno de ellos está finamente disperso en partículas insolubles dentro del otro, formando la fase dispersa y la fase dispersante. Las

emulsiones pueden ser naturales (como la leche) o artificiales. Son muy usadas en cosmética las de tipo líquido o cremoso; formando la gran mayoría de las leches y cremas de belleza. El objeto de una emulsión es llevar a la piel tanto aceite como agua en una forma útil y agradable. El descenso de la tensión interfacial permite que una pequeña cantidad de producto cubra una zona extensa, aumente el contacto, penetración y la eventual absorción.(38)

1.11 IMPORTANCIA DE LA FITOTERAPIA

La fitoterapia, consiste en el uso de las plantas con fines curativos. Muchos de los fármacos que existen son derivados de plantas medicinales. Muchos de los preparados a base de hierbas o plantas medicinales pueden llegar a resultar una buena solución para pequeños problemas de salud. (1) (10)

Tiene gran importancia la forma de recolección y conservación de las plantas, ya que las células vegetales, desde el mismo momento de la recolección, sufren un cierto número de transformaciones biológicas. Al separar la parte aérea de la raíz, se provoca una interrupción del flujo alimenticio y de transpiración. Una incorrecta recolección y desecación, aumenta la cantidad de productos de degradación, perdiendo la planta parte de su calidad.(11)

En las plantas los principios activos se hallan siempre biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a potenciarse entre si. Son sustancias vegetales que está dotada de propiedades curativas, o que tiene una actividad farmacológica.(11) (18)

Entonces la droga de una planta puede ser la corteza, las hojas, sus frutos, etc. Se da que en muchas especies vegetales, en una misma planta existan diferentes partes que poseen principios activos, y en consecuencia puedan tener acciones farmacológicas distintas. (1) (3)

La fitoterapia pertenece al ámbito de la medicina y no es parte de las Ciencias Farmacéuticas, es ejercida por médicos y por fitoterapeutas. El farmacéutico no

sededica al tratamiento de patologías sino al estudio de medicamentos.(30)

La farmacéutica tiene su aproximación a la fitoterapia en la farmacognosia, que da cuenta de los constituyentes químicos de las plantas o de sus órganos o partes y de las propiedades farmacológicas de estos. (30)

La Fitoterapia moderna, se basa en el conocimiento de la Farmacología, y considera los aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticos de los medicamentos basados en plantas medicinales. (30) (17)

1.11.1 EN DEFENSA DE LAS PLANTAS MEDICINALES

La medicina moderna, a través de los análisis clínicos, ha conseguido precisar la validez de aquellas plantas que la tradición había utilizado a base del método de ensayo y error. Muchas resultaron ser válidas; otras demostraron ser inocuas; otras potencialmente peligrosas. Han sido precisamente los análisis bioquímicos los que han podido determinar cuáles son los componentes principales de las plantas medicinales los llamados principios activos.(5) (6)

La capacidad de la moderna industria química de producir estos principios sin la ayuda de las plantas no supone negar la importancia que estas tienen y seguirán teniendo en el futuro. Entre los principales argumentos de defensa de las plantas medicinales tenemos los siguientes:(6)

Un banco de futuras medicinas por descubrir: Existen aproximadamente medio millón de plantas con flores, la mayoría de las cuales no ha sido investigadas y cuyos principios podrían ser decisivos en la curación de enfermedades actuales o venideras.

Medicina sinérgica: Se ha comprobado como en muchos casos la aplicación de un componente aislado no ha tenido el efecto deseado, bien porque no tiene el mismo poder curativo que cuando se toma en conjunto con el resto de componentes, bien porque ha resultado ser tóxico. Los componentes de las plantas tienen un efecto sinérgico, es decir interactúan todos a la vez, de manera que unos pueden complementar o potenciar a otros o neutralizar sus posibles efectos negativos.(5)(6)

Apoyo de la medicina oficial: El tratamiento de enfermedades muy complejas puede requerir en algunos casos el apoyo de las propiedades medicinales de las plantas o de los derivados que ellas nos proporcionan.(2)

Medicina preventiva: Finalmente, no debemos olvidar el carácter preventivo que las plantas tienen con respecto a la aparición de enfermedades. En este sentido las plantas superan a los remedios químicos que se aplican fundamentalmente cuando ya ha aparecido la enfermedad. Se ha comprobado como la ingestión de alimentos naturales puede prevenir muchas patologías. Se admite que la ingestión de vegetales con propiedades antioxidantes , especialmente aquellos que pertenecen al grupo de las brasicáceas, como coles, rábanos,etc., o ciertas liliáceas, como el ajo la cebolla.(2) (8) (26)

1.12 ROMERO



FUENTE: ROMERO [http://www.ciudadano00.es/2012/09/17/diez-cosas-para-plantar-en-tu-huerto-urbano-en-otono/planta-romero/\(26/08/12\)](http://www.ciudadano00.es/2012/09/17/diez-cosas-para-plantar-en-tu-huerto-urbano-en-otono/planta-romero/(26/08/12))

FIGURA N°9 ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)

1.12.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.

La planta del romero habita en la región mediterránea del Sur de Europa y del Norte de África creciendo espontáneamente o en cultivo, en los suelos calcáreos., también en Asia menor. En las Baleares se encuentra en todas las islas mayores y en la Península sólo falta o escasea en puntos del Norte y el Noroeste, siendo frecuente en las tierras

bajas de clima cálido. Actualmente se cultiva en todo el mundo.(17) (46)

1.12.2 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS:

El romero es un arbusto siempre verde, leñoso, de hasta 2 metros de altura, con hojas rígidas, lineales, lanceoladas, en forma de aguja y de aspecto coriáceas; las recubre una capa de diminutos pelos. De las axilas de las ramas superiores brotan pequeñas flores labiadas de color azul o violeta, y que pueden ser vistas casi todo el año. Sus frutos son tetraquenos.(7)

El romero en verde se reconoce por su fuerte olor alcanforado, que recuerda a las resinas de las coníferas. Se trata de una especie espontánea en la región mediterránea, de donde procede; se puede encontrar de forma espontánea en toda la zona incluida la Península Ibérica. Actualmente se cultiva en todo el mundo; es utilizada como planta ornamental en toda Europa, donde crece fácilmente en parques y jardines al abrigo del viento. (45)

1.12.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

- Aceite esencial (1 a 2%):
- Monoterpenos.
- Sesquiterpenos.
- Monoterpenoles: linalol, borneol.
- Esteres terpénicos.
- Derivados terpénicos.
- Ácidosfenil-carboxílicos.
- Flavonoides.(46)

Esta planta contiene fabiatriina, un glucósido de escopoletina, hidroxiacetofenona, ácido oleanólico y pigmentos amarillos. A partir del extracto acuoso de las ramas se han aislado, varios azúcares entre ellos D-magnanoheptulosa, D-glicero-D-magnocetulosa, perseitol, D-arabinosa, D-mannitol, galáctitol, mioinositol, D- xilosa, D-galactosa y primaverosa. No se encontró D-eritro-D-galactotitol en el extracto.

También se indican derivados antraquinónicos: eritroglaucina, physición junto a acetovanillona, alcanos y ácidos grasos. Se han encontrado además quercetina, kaempferol, rutina y dos alcaloides N-hentriscontano, N-heptacosano y ácido heptacosanoico, y acetovanillona.(30)

1.12.4 PROPIEDADES TERAPÉUTICAS.

Tiene propiedades antiespasmódicas, como calmante de los nervios, especialmente útil durante la menopausia. Es estimulante, diurética y colagoga; cardiotónico, hipotensor y mejorador de los procesos digestivos; es carminativo. Es útil en reumatismos articulares, dolores reumáticos y de estómago, y en aquellos dolores de cabeza de origen nervioso. Es muy eficaz en afecciones cutáneas, como contusiones, úlceras y heridas; también como alivio sintomático de reacciones alérgicas de la piel, y de variadas formas reactivas de la misma, ejemplo de la que produce la procesionaria del pino o los pelillos urticantes de las ortigas.(45)

El romero se utiliza ampliamente en farmacología, Así, de las hojas se extrae una esencia que forma parte de muchos preparados antirreumáticos, ejemplo del alcohol (*spiritusrosmarini*), o linimentos como él(*linimentumsaponafocamphoratum*), utilizados en aplicaciones tópicas. Esta especie es además una apreciada planta aromática y condimento en aplicaciones culinarias. También se utiliza en la industria de la perfumería.(45)

1.13 MATICO



FUENTE: MATICO [http://isidrovillavicencio93.wordpress.com/2012/03/30/el-matico/\(26/08/12\)](http://isidrovillavicencio93.wordpress.com/2012/03/30/el-matico/(26/08/12))

FIGURA N°10 MATICO (*Piper aduncum*)

1.13.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.

Es una planta oriunda de América del sur, crece entre los 2600-2700 msnm, prefiere los sitios húmedos, las orillas de los riachuelos y fangos.(43)

1.13.2 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

Arbolillo delgado, erecto de 4 m de alto. Tallos verdes, glabros, nudos hinchados. Hojas con peciolo corto; lámina ovada, de 15 x 9 cm, oblicuamente atenuada en la base, largamente atenuada en el ápice; superficie escabrosa, nervadura secundaria mayor levantada desde la mitad inferior de la vena media. Inflorescencia erecta, 4 mm de grosor, 12 cm de largo, curvado, blanco.(16)(26)

1.13.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

Hojas: alcaloides, saponinas, esteroides, taninos flavonicos, aceites esenciales, fenoles, esteroides, azúcares reductores y glucósidos, cumarinas, acidotartarico, vitK, etc. Tallos y raíces: aceites esenciales, fenoles, esteroides, terpenos, glucósidos, alcaloides, saponinas, esteroides, taninos flavonicos, flavonoides. (26)

De las hojas se han aislado varios compuestos triterpénicos como el friedelinol, la friedelina, la -amirenona y de acetato dammaradieniloy también algunos diterpénicos. (26)

En la parte volátil se han encontrado parafinas de 18-29 carbonos, ésteres metílicos de ácidos grasos (C16, C17, C22 y C24) algunos sesquiterpenos, entre los cuales, los más abundantes son el -gurjuneno, el trans- -farneseno, el -bisabolenol y el -sesquifelandreno. Se han aislado también flavonoides, en especial medicinales del mismo género, se han aislado glucósidos, eupatorina, guayanólidos, eupatólidos, eupatilina y kaempferol. (30)

1.13.4 PROPIEDADES TERAPÉUTICAS.

La principal propiedad medicinal de esta planta es la de ayudar en la cicatrización de

todo tipo de heridas, ya sea externas o internas. De aquí deriva su utilidad en el tratamiento de la úlcera digestiva. Externamente, su efecto benéfico sobre heridas de lenta cicatrización es muy sorprendente, lo que ha contribuido en mayor medida a su gran reputación. El Padre Zinn (1929) le reconoce, además, bondades hemostáticas y un efecto benéfico en algunos trastornos de las vías urinarias. Sin embargo, la principal y que parece útil mantener en primer lugar es su propiedad vulneraria, vale decir, cicatrizante de heridas. (45) (39)

En la cultura mapuche se le considera como vulneraria, también usada en dolencias interiores así como contra la sarna y la sífilis. Su corteza macerada y revuelta en orina podrida sirve para lavar la parte afectada y es secada con un polvo preparado con sus hojas, Las hojas se usan en infusión, para curar úlceras y en cataplasma para contusiones. La resina se utiliza para sacar astillas y curar magulladuras. Esta planta tiene propiedades vulnerarias y hemostáticas. Sobre la mucosa gastrointestinal, el matico obra como tónico e irritante produciendo, en altas dosis, posibles diarreas y otros desórdenes en el tubo digestivo. El jugo de las hojas es utilizado como vulnerario, la infusión de la misma es utilizada en el tratamiento de abscesos en el hígado, disentería crónica y catarros intestinales, así como para tratar heridas de úlceras y como carminativas, el polvo de sus hojas o su infusión se utilizó para tratar úlceras y heridas. (39)

1.14 COLA DE CABALLO



FUENTE: COLA DE CABALLO <http://www.remediosya.com/570-remedios-naturales-para-tratar-eczemas/> (26/08/12)

FIGURA N° 11 COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*)

1.14.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.

Los parientes fósiles de *Equisetum* aparecen desde el Devónico (hace unos 408-360 millones de años) y luego se han vuelto más abundantes y relativamente pequeños (menos de 1 metro de altura) adaptados al sotobosque de los bosques del Carbonífero.(32)

Algunos miembros de las equisetópsidas tienen tallos que llegaron hasta los 20 metros de altura, pero se extinguieron en el Carbonífero tal como las *lycophytas* gigantes de ese tiempo. (32)

Los primeros fósiles claramente asignables al linaje de las equisetáceas (claros ancestros de *Equisetum*) son del Eoceno (hace unos 54-38 millones de años), pero el género puede extenderse hasta el Pérmico, hace más de 300 millones de años. (32)

Esta planta crece en suelos húmedos temporalmente inundados en Eurasia, Norteamérica y algunos lugares de África. (32)

1.14.2 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

Es una planta herbácea vivaz de 20 a 60 cm con tallos articulados y estriados, dotados de nudos rodeados por vainas foliares que concluyen en denticulaciones agudas. La cola de caballo tiene tallos estériles ramificados y tallos fértiles no ramificados y acabados por un cono esporífero de color pardo oscuro. (32) (41)

1.14.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

- Numerosos flavonoides: monoglucósidos
- Taninos gálicos.
- Ácidobenzóico.
- Esteroles: colesterol.
- Lignanos: ácidos caféico, ferúlico y p-cumarínico.
- Carotenoides: a y b caroteno.
- Trazas de alcaloides

- Sales minerales sobre todo silícicas, potásicas, magnésicas y manganésicas.
- Ácidos fenil carboxílicos: caféico. (32)

El género *Equisetum* contiene los siguientes alcaloides: nicotina, equisetonina, palustridina, palustrina, 3-metoxipiridina. Además de los alcaloides, contiene flavonoides (equisetrina, isoquercitrina, 5-glucósido de luteolina) partes superiores contienen 0.03-0.19% de la vitamina C, aceite fijo del (3-3.5%), ácido silícico (hasta 25%), taninos, resinas y sustancias amargas; 4.7 mg% de caroteno. (32)

1.14.4 PROPIEDADES TERAPÉUTICAS.

Entre sus cualidades también destaca su alto poder para cortar hemorragias debido a que contiene mucho ácido péptico y gálico, que sirven para detener la sangre. Hay que tener en cuenta que es un buen aliado para los huesos debido a su alto contenido en silicio que ayuda a la regeneración y fortalecimiento de los mismos en lesiones. Por lo que es un buen remedio para la osteoporosis, tendinitis, fracturas.(7) (41)

Este alto contenido en silicio también favorece el crecimiento del cabello y las uñas, que se vuelven más fuertes y de mejor calidad. Pero no sólo sus usos son internos, pues se puede utilizar de forma externa como emplasto para alteraciones de la piel como eccemas, úlcera. Por su poder antiinflamatorio se usa para aliviar la conjuntivitis y la limpieza de zonas íntimas.(7)

Todas estas cualidades y funciones hacen que a partir de ahora tengamos en cuenta la existencia de esta especie tan completa y útil. Y que sea una planta a tener en cuenta a la hora de elegir con cuál quedarnos. (40)

1.15 EXTRACTOS VEGETALES

El Análisis Químico se PAM(Plantas aromáticas y medicinales) consiste en la determinación de la estructura y composición química de alguna parte de la planta. Actualmente se considera como una referencia indispensable para determinar la calidad para el empleo de las mismas, especialmente cuando van a ser empleadas en

medicamentos fitoterápicos o especialidades farmacéuticas. Así mismo, es una herramienta muy útil para determinar absorción de sustancias tóxicas por las plantas, residuos de plaguicidas, y las posibles consecuencias derivadas de procesos de contaminación atmosférica, de las aguas o de los suelos. En taxonomía vegetal, permite la identificación química de especies y quimiotipos.(5) (29)

1.15.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

La extracción sólido-líquido es una operación que está presente prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica; dentro de ésta, los métodos de extracción por maceración y la percolación o lixiviación son los más utilizados. (29)

Maceración: El material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un tanque cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto. (29)

Percolación o lixiviación: El material crudo previamente triturado se pone en contacto con cantidad suficiente de solvente de forma tal que el solvente cubra la capa de sólido en el tanque percolador. El solvente se renueva de modo continuo manteniéndose un gradiente de concentración, el disolvente puro desplaza al que contiene la sustancia extraída sin ser necesario aplicar presión. La droga residual es prensada y el fluido obtenido es combinado con el percolado para concentrar el extracto. (29)

1.15.2 CLASIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Dependiendo del grado de concentración de los extractivos, los extractos pueden clasificarse en:

- Extractos fluidos o líquidos
- Extractos semisólidos o blandos
- Extractos secos (5)

1.15.3 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del productomedicinal. (5) Por ejemplo:

- **Naturaleza química de la materia prima vegetal:** conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer.
- **Selección del solvente:** definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés.
- **Relación sólido-líquido:** la proporción más conveniente de trabajo será aquella con la que se alcancen los mayores rendimientos de extracción.
- **Tamaño de partícula del sólido:** de la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida el éxito de la lixiviación, a menor tamaño de partícula, mayor superficie de contacto entre la droga y el disolvente, y por tanto, mayor acceso de los principios activos al medio líquido; no obstante, tamaños de partícula muy pequeños conducen a la formación de polvos demasiado finos, que pueden causar problemas en el proceso de extracción.
- **Temperatura:** el aumento de la temperatura favorece la extracción, hay que prestar especial atención cuando la sustancia de interés es termolábil o el menstuo es volátil, además, temperaturas elevadas pueden conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables.
- **Velocidad de agitación y tiempo de extracción:** los óptimos valores de estos parámetros serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones.
- **Viscosidad del medio:** no deben seleccionarse solventes de viscosidad relativamente alta.(5)

El extracto vegetal obtenido se debe caracterizar en cuanto a: sustancias activas y marcadores, densidad, solventes residuales, sólidos totales, pH, control microbiológico y volumen total. (5)

1.16 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Como se trata de un sujeto experimental, también nace el concepto de reactivo biológico: un animal de experiencia, en función del tema de estudio, capaz de dar una respuesta fiable y reproducible. Su idoneidad para el estudio debe ser vigilada, para que su uso no sea en vano y los resultados sean fiables. La pureza del animal debe ser vigilada, controlada y contrastada. No se debe olvidar que también son susceptibles a la contaminación tanto biótica como abiótica, que puede provocar un efecto distorsionador sobre los resultados del proceso experimental. Por otro lado, la posibilidad de reproducir las experiencias está limitada por su propia variabilidad, sobre esta base el empleo de animales homogéneos asegura la fiabilidad de la respuesta esperada. Así nace el concepto de “homogeneidad del reactivo biológico”

Si la experimentación se lleva a cabo con determinadas especies, los animales deben ser criados específicamente para ese fin, procediendo de establecimientos registrados y autorizados. Independientemente de si el animal forma parte de estas determinadas especies, siempre que sea posible se deberán utilizar animales de cría. Animales criados en centros dedicados a la obtención de animales de laboratorio (animalarios, bioterios, estabularios o unidades de producción y/o experimentación animal). Éstos, suministran los individuos a los investigadores y/o mantienen los animales en fase experimental, asesorando a otros centros productores o a los usuarios, en las fases pre/post-experimental (31)

1.16.1 RATONES DE LABORATORIO.



FUENTE: PROAÑO, J. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

FOTOGRAFÍA N° 1 RATÓN (*Mus musculus*)

El ratón de laboratorio es un roedor, usualmente de la especie (*Mus musculus*), que se utiliza para la investigación científica. Su cariotipo está compuesto por 40 cromosomas y suelen ser albinos. (24)

Para cada experimento se escogen ratones de laboratorio que pertenezcan a una misma cepa pura o endogámica. Los individuos de una misma cepa llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos experimentales (fármacos, entorno físico, etc.), sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas (31)

1.16.2 CARACTERÍSTICAS.

Los ratones comunes adultos pesan entre 12 y 40 g, y miden entre 15 y 19 centímetros, incluyendo la cola, que supone algo más de la mitad de su longitud. Su pelaje es corto y de tonos grises, que se aclaran en el vientre. Los ratones de laboratorio y los utilizados como mascotas son generalmente blancos. Su pelo es escaso en la cola y las orejas. Posee unos largos bigotes (vibrisas) que son sensibles al tacto y le proporcionan información sobre el medio. Como su vista es muy débil el ratón, sólo identifica los objetos desde muy cerca. Su olfato en cambio es muy desarrollado, lo ayuda en encontrar los alimentos y a los demás ratones. Su oído es también desarrollado, el ratón oye hasta los sonidos de 100 kHz (80 kHz más que las personas). (24) (31)

CAPITULO II

2.PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se realizó en:

- Laboratorio de Fitoquímica
- Laboratorio de Bioquímica
- Laboratorio de Microbiología
- Bioterio de la Facultad de Ciencia

2.2 RECURSOS MATERIALES

2.2.1 MATERIA VEGETAL

Plantas seca y pulverizada Romero (*Rosmarinus officinalis*), Matico(*Piper aduncum*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense*), misma que se consiguieron en la Asociación de Productores y Comercializadores de Plantas Medicinales “Jambi Kiwa” ubicada en la parroquia Santa Anita de la ciudad de Riobamba.

2.2.2 EQUIPOS

Autoclave P-C	Estufa
Balanza Analítica	Mufla
Bomba al vacío	pH-metro
Desecador	Refractómetro
Calculadora	Refrigeradora
Cámara Digital	Rota vapor R110
Computadora	UV
Espectrofotómetro	Viscosímetro

2.2.3 MATERIALES

Algodón	Matraces
Acerrin	Papel aluminio
Asa de platino	Papel filtro
Balones aforados de 10, 25, 100, 500 mL	Pera de succión
Balones esmerilados 250, 500 mL	Piseta
Barilla de vidrio	Picnómetro
Cajas de guantes y mascarillas	Pipetas graduadas 1,5,10mL
Cajas Petri	Pipetas volumétricas 1,5, 10 mL

Canasta	Pinza para cápsulas
Cápsulas de porcelana	Pinza de tubos de ensayo
Cedazo	Probeta 25, 50, 100 mL
Crisol	Reverbero
Embudo simple y bucher	Tubos de ensayo
Erlenmeyer	Trípode
Gradilla	Varilla de agitación
Hojas de bisturí	Vasos de precipitación
Jaula de ratones	Vidrio reloj
Lámpara de alcohol	

2.2.4 REACTIVOS

Acetato de etilo	Lanolina
Ácido clorhídrico al 1%	Magnesio metálico
Ácido clorhídrico concentrado	Metanol
Ácido esteárico	Propilenglicol
Ácido sulfúrico concentrado	Reactivo de Baljet
Alcohol amílico	Reactivo de Borntrager

Alcohol antiséptico	Reactivo de Drangedorff
Alcohol potable	Reactivo de Liberman-Buchard
Alcohol (etanol 96°)	Reactivo de Shinoda
Agares para pruebas microbiológicas	Reactivo de Mayer
Agua destilada	Reactivo de Wagner
Anhídrido acético	Solución de carbonato de calcio
Cloroformo	Solución de ninhidrina al 5%
Cloruro férrico 5%	Sulfato cúprico
EDTA	Sulfato de vainillina
Éter	Suero fisiológico
Extractos de plantas para experimentación	Tartrato de sodio y potasio
Formol al 10%	TEA
Glicerina	Tricloruro férrico al 5%
Hidróxido de sodio	

2.2.5 MATERIAL BIOLÓGICO

Ratones (*mus musculus*) que se obtuvieron del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA VEGETAL

El análisis físico químico de una droga cruda vegetal nos permite establecer los parámetros de calidad y estabilidad para asegurar el producto farmacéutico.

2.3.1.1 Determinación del contenido de humedad:Método Gravimétrico.- Se pesa $2 \text{ g} \pm 0.5$ de droga cruda y se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C durante 3 horas. La cápsula de porcelana se colocó en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora, volviéndose a pesar hasta obtener una masa constante.

Cálculos:

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

$\%H$ = pérdida en peso por desecación (%)

M_2 = masa de la cápsula con la muestra del ensayo (g)

M_1 =masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M =masa de la cápsula vacía (g)

100=factor matemático

2.3.1.2 Determinación de cenizas totales.- Previamente se calcina las cápsulas en la mufla a 6000°C durante 2 horas, se introduce en el desecador hasta que alcanzan la temperatura ambiente y se pesan (P_1). A continuación se introducen en las cápsulas aproximadamente 2 g de muestra y se pesa de nuevo (P_2). Se introduce en la mufla a 6000°C durante 2 horas. Transcurridos dicho tiempo se lleva las cápsulas a un desecador hasta que alcancen la temperatura ambiente y se pesan (P_3). Cálculos:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} * 100$$

P₁= peso en g de la cápsula vacía

P₂=peso en g de la cápsula con la muestra

P₃=peso en g de la cápsula con la muestra calcinada

2.3.1.3 Cenizas solubles en agua.- A las cenizas totales obtenidas según el aparato anterior, se le añade de 15 a 20 mL de agua. La cápsula se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5 min. La solución se filtra a través del papel filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere a la cápsula inicial, se carboniza en un mechero y luego se incenera en la mufla de 600-550°C., durante 2 horas. Posteriormente se coloca en desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesa (P₄). Se repite el procedimiento hasta alcanzar un peso constante. Cálculos:

$$\% \text{ Cenizas solubles en agua} = \frac{P_3 - P_4}{P_2 - P_1} * 100$$

P₁= Peso en g de la cápsula vacía

P₂=peso en g de la cápsula con la muestra

P₃=peso en g de la cápsula con la muestra calcinada

P₄= peso en g de la capsula con las cenizas insolubles.

2.3.1.4 Cenizas insolubles en ácido clorhídrico.- A las cenizas totales obtenidas se le añaden de 2 a 3 mL de ácido clorhídrico al 10%. La cápsula se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10 min. Se lava el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente y se pone el contenido de la cápsula. La solución se filtra a través de un papel filtro; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con el ácido nítrico al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1 M.

El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 150°C., se transfiere a la cápsula inicial y se

incinera en la mufla de 600-650°C., durante dos horas. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. (P₅) Se repite el procedimiento hasta obtener peso constante. Cálculos:

$$\% \text{Cenizas insolubles en ácido clorhídrico} = \frac{P_3 - P_5}{P_2 - P_5} * 100$$

P₃= peso en g de la cápsula con la muestra calcinada

P₂=peso en g de la cápsula con la muestra

P₅= peso en g de los ensayos

2.3.1.5 Determinación de sustancias solubles

De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada se pesa 5g y se transfiere a un frasco cónico con tapa con capacidad de 250mL. Se le añade 100mL.de agua y se agita constantemente durante 6 horas. Dejar en reposo 24 horas, luego se agitan 30 minutos y se filtra por papel. Se toma una alícuota de 20mL., se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada, evaporar sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105°C, durante 3 horas, se enfría en un desecador y se pesa.

Cálculos:

$$\%Ss. = \frac{R * 500 * 100}{M * (100 - H)}$$

%Ss. = porcentaje de sustancias solubles en base hidratada

H = humedad

R= Residuo de la muestra en %

M= Masa de la muestra de ensayo

2.3.2 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

2.3.2.1 Extractos de Romero (*Rosmarinus officinalis*), Mático (*Piper aduncum*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense*).

- En un recipiente de vidrio con su respectiva tapa, se transfiere la droga cruda pesada y se humedece directamente con etanol 96°, procurando que no quede líquido residual. (Generalmente se emplea por cada gramo de droga, 2mL de alcohol para la humectación). Se agita constantemente por 5 minutos para que todo el material se humedezca. Se macera por 3-5 días.
- Luego de los días de la maceración se transfiere a un Erlenmeyer de 1000 mL todo el material líquido obtenido, en un proceso de decantación, vaciando así todo el contenido líquido.
- Con la ayuda de un embudo cuyo orificio de salida se cubrió con papel filtro, se transfiere el líquido decantado a otro erlenmeyer de 1000 mL. De esta manera filtramos las impurezas que pudo contener el extracto.
- Se coloca en un balón esmerilado (previamente pesado) el contenido obtenido por filtración e iniciamos el proceso de concentración del extracto por medio del rotavapor.
- Se envasa en un recipiente de vidrio oscuro para que no esté en contacto con la luz evitando oxidación de los extractos.

2.3.3 CONTROL DE CALIDAD DE EXTRACTOS

Determinación de características organolépticas.

Para esta prueba se toma una alícuota de 25 mL del extracto y se coloca en un vaso de precipitación de 50 mL., para realizar el análisis sensorial de: color, olor, aspecto y turbidez.

Determinación de pH

Se toma una alícuota de 25 mL., de la muestra y se procede a medir directamente en el pHmetro previamente calibrado.

Determinación del índice de refracción

- Se mide en un refractómetro de Abbe, calibrando el equipo con agua destilada.
- Alzar cuidadosamente la tapa del refractómetro y limpiar con el papel filtro.
- Colocar la muestra (extracto)
- Anotar los resultados

Fórmula:

$$n_d^{20} = n + 0.00044(T - 20)$$

Donde:

$(n)^{20}$ = índice de refracción corregido

$(n^T)^d$ = índice de refracción determinado

0.00044 y 20 = factores de corrección matemáticos

T = temperatura a la que se realiza la lectura.

Determinación de la densidad relativa

- Lavar cuidadosamente el picnómetro y secar bien, colocar en la estufa durante una hora.
- Pesar el picnómetro. (M)
- Enrasar el picnómetro con agua destilada, secarlo y pesarlo (M₁)
- Vaciar el contenido del picnómetro y llenarlo nuevamente, pero esta vez con la muestra (extracto).
- Enrasar el picnómetro con el extracto, secarlo y pesarlo. (M₂)

Cálculo:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} \frac{M_2 - M}{M_1 - M}$$

M₁=peso del picnómetro en g con agua destilada

M₂=peso del picnómetro en g con la muestra de ensayo

M=peso del picnómetro vacío

Determinación de sólidos totales

Transferir a una cápsula previamente tarada, 5 mL de muestra y llevar a baño María, completar la evaporación en estufa a 105°C., por 3 horas, pesar la cápsula y repetir el procedimiento hasta peso constante con intervalo de 30 min. Los resultados se expresan en porcentaje de sólidos totales y se reportan en cifras enteras.

Fórmula:

$$S_t = \frac{P_r - P}{V} * 100$$

P_r=masa en g de la cápsula más residuo

P=masa en g de la cápsula vacía

V=volumen de la porción del ensayo en mL

100=factor matemático

2.3.4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA DROGA VEGETAL, EXTRACTOS SIMPLES Y COMBINADOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*).

Se realiza un tamizaje fitoquímico con reacciones químicas de identificación, mediante

cambios de color o formación de precipitados, para determinar la presencia de metabolitos secundarios.

2.3.4.1 Ensayo de Drangendorff, Mayer o Wagner. (Alcaloides)

La solución acuosa ácida se filtra hasta que el filtrado sea completamente transparente. Se toma una alícuota del filtrado para cada ensayo con los reactivos para alcaloides Drangendorff, Mayer, Wagner.

Se considera positiva las pruebas en las que aparecen precipitados.

2.3.4.2 Ensayo de Shinoda (Flavonoides)

Se coloca 20 gotas de extracto en un tubo de ensayo, se agrega de 2 a 3 virutas de Magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. Observe el cambio de coloración de rojo a magenta. Tomando en cuenta que si el extracto está disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo disolverse en 1 mL de HCl al 1 %. Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade una gota de HCl concentrado.

2.3.4.3 Ensayo de Liberman-Buchard (Triterpenos y/o Esteroides)

Para realizar este ensayo, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 2-3 gotas de H_2SO_4 concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por cambio rápido de coloración.

- Rosado-azul muy rápido
- Verde intenso-visible aunque rápido
- Verde oscuro-negro final de la reacción

Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de la reacción pues está con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

2.3.4.4 Ensayo de Borntrager (Quinonas)

Si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de potasio o amoníaco al 5 %. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) o rojo, para lo cual se reporta (+++).

2.3.4.5 Ensayo de Baljet (Cumarinas)

Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y disolver en 1 mL de alcohol. Seguidamente, se añade 1 mL del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++) y (+++) respectivamente.

2.3.4.6 Ensayo de espuma (Saponinas)

Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 min.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persiste por más de 2 min.

2.3.4.7 Ensayo de Cloruro Férrico (Taninos)

Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adiciona 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua). Si el extracto es acuoso el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar siguiente información:

- Coloración rojo-vino compuestos fenólicos general

- Coloración verde intensa, taninos de tipo pirocatecólicos
- Coloración azul, taninos tipo pirogalotánicos.

2.3.4.8 Ensayo de Resinas

Para detectar este tipo de compuestos se adiciona a 2 mL, de la solución alcohólica 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado indica un ensayo positivo.

2.3.4.9 Ensayo de Fehling (Azúcares reductores)

Si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adiciona 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 min la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

2.3.4.10 Ensayo de Mucílagos

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto de agua se enfría a 0-5°C y si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo.

2.3.4.11 Ensayo de Antocianidinas

Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C₆-C₃-C₆ del grupo de los flavonoides.

Se calienta 2 mL del extracto etanólico por 10 min, con 1 mL de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Agitar y dejar separar las 2 fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, indica ensayo positivo.

2.3.5 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (FLAVONOIDES)

- Mezclar 1mL del extractos combinados con 10 mL de metanol por 5 min en un

baño de agua (60°C)

- Tomar 5 mL de la solución y concentrar hasta sequedad.
- Colocar 2 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo, agitar por 10 min.
- Separar la fase de etil acetato y concentrar hasta obtener un volumen de 1 mL.
- Usar el concentrado para la cromatografía.
- Se aplica 10 µL del concentrado en una placa cromatográfica de sílica gel 60F₂₅₄ con ayuda de un capilar.
- Dejar secar después de cada aplicación.
- Se introduce la placa en una cuba cromatográfica, hasta que el solvente recorra las $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- Retirar la cuba y dejar secar para luego observar en la lámpara UV 365 nm.
- Revelar la placa y dejar secar, calentar la estufa y anotar los R_f.
- Sistema de solventes: Cloroformo-acetona-ácido fórmico (75:16.5:8.5)
- Revelador: Sulfato de Cerio (Ácido nítrico concentrado 20 mL: cerio 0.06 g)

Adsorbente: Sílica gel 60F₂₅₄

Solventes: Cloroformo-acetona-ácido fórmico (75:16.5:8.5)

Revelado: Sulfato de cerio

Cálculo:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

2.3.6 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

- Se pesa 1 mL de extractos y colocamos en un balón de 250 mL.
- Añadir 20 mL de etanol al 50% y 8 mL de ácido sulfúrico.
- Reflujar por 2 horas en baño de agua.
- Dejar enfriar y filtrar a través de filtro Buchner, utilizando papel filtro.

- Lavar el residuo con 10 mL de etanol al 50 % para desecharlo finalmente
- El filtrado se evapora en baño de agua hasta la mitad del volumen inicial.
- Enfriar sobre el baño de agua fría durante 30 min.
- Filtrar el papel con el residuo se lava con 70 mL, de etanol al 96% caliente a 50°C
- Se trasvasa a un balón volumétrico de 100 mL., se afora con etanol al 96%.
- Determinar la absorbancia 258nm
- Como patrón se emplea 0,04g de quercetina, los cuales se debe disolver con etanol 96% hasta completar un volumen de 50 mL., de esta solución tomar 1 mL, y se diluye a 100 mL, con etanol al 50%.
- El blanco consiste en la solución de etanol al 50%.

Cálculos:

$$X = \frac{Am * Pr * 5}{Ar} * 100$$

X= Contenido de flavonoides expresados como quercetina (%)

A_m=Absorbancia de la solución muestra (nm)

P_r= Peso de la sustancia de referencia (g)

A_t=Absorbancia de la solución de referencia (nm)

2.3.7 DETERMINACIÓN DE LOS TIPOS DE EXCIPIENTES Y LA FORMULACIÓN DE LA CREMA CICATRIZANTE.

Para la preparación de la crema cicatrizante 100g partimos de la siguiente formulación:

- Extracto 40g

- Ácido esteárico 10g
- Lanolina 5g
- Glicerina 10g
- Propilenglicol 10g
- TEA 10g
- Agua 30g
- Parafina líquida 3-5 mL

Se realiza combinaciones de porcentajes de extracto hidroalcohólico de Romero (*Rosmarinus officinalis*), Mático (*Piperaduncum*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense*) de la siguiente manera

	Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	Mático (<i>Piperaduncum</i>)	Cola de caballo (<i>Equisetum arvense</i>)
	%	%	%
GRUPO A	50	30	20
GRUPO B	30	50	20
GRUPO C	20	30	50

2.3.7.1 Proceso para preparación de crema

- Hervir en un vaso de precipitación el agua y TEA.
- Fundir en baño maría lanolina y ácido esteárico.
- Agregar a b fundido la glicerina y el propilenglicol.
- Mezclar c y a agitando hasta que comience a cuajar.
- Añadir el extracto y mezclar, seguir agitando hasta enfriar.
- Si la consistencia no es la adecuada agregar la parafina líquida.
- Envasar y etiquetar.

2.3.8 CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO

2.3.8.1 Control de la calidad de la crema

El control de calidad del producto terminado tiene como propósito determinar si una forma farmacéutica posee las características de calidad establecidas previamente, para que el medicamento cumpla el objeto para el cual fue fabricado de manera segura y eficaz.

Determinación del olor

Con una tira de papel secante se introduce en un extremo de la muestra de ensayo y se percibe determinando la característica de olor que presenta el producto.

Determinación del color

En un tubo de ensayo limpio y seco se llena con la muestra hasta las tres cuartas partes del mismo y se observa el color, la transparencia de partículas y la separación en fases.

Determinación de la presencia de grumos

Se toma una pequeña cantidad de crema con los dedos y se aplica suavemente en el dorso de la mano y se observa si hay la presencia o ausencia de grumos.

Determinación de untuosidad al tacto de la crema

Se toma una pequeña cantidad de crema con los dedos se aplica suavemente en el dorso de la mano y se observa si hay la presencia o ausencia de grasa., para determinar si la untuosidad es lipofílica o hidrofílica.

Determinación de la extensibilidad de la crema

Se pesa 0.2 a 0.02g de muestra a 25°C se presiona entre dos superficies de vidrio sobre las cuales se adiciona una pesa de 100g durante 1 min. El área originada es la variable respuesta.

Determinación del pH

- Se mide en un medidor del pH previamente calibrado con soluciones tampón de pH 4 y 7.
- Sacar el electrodo del tampón lavar con agua destilada y secar con un papel filtro.
- En otro caso se coloca la muestra (crema), en un vaso se introduce el electrodo limpio homogenizar y determinar el pH.

Determinación de la viscosidad

Se toma muestra representativa del producto terminado y se introduce el viscosímetro y se toma la señal indicada en el mismo.

Termorresistencia

Se aplica una muestra de crema y se deja por 1 y 2 meses a una temperatura de 37°C, no se debe evidenciar cambios físicos ni químicos.

2.3.9 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

2.3.9.1 Método de conteo de aerobios mesófilos totales en placa

- Pesar 10g de crema en un Erlenmeyer estéril
- Agregar 250 mL de agua de peptona al 0.1 % estéril y homogenizar, de este modo se obtiene una disolución de 10^{-1} . Dejar reposar 1 hora.
- De esta disolución tomar 1 mL y mezclar 9 mL de agua de peptonada 0.1% y obtener una disolución de 10^{-2} . De este modo realizar otras disoluciones.
- Se preparan tubos de ensayos tapa rosca con 15 mL de medio cultivo PCA (PlateCount Agar).
- A cada tubo con agar se adiciona 1 mL de la dilución preparada en el agua peptonada al 0.1%.
- Homogenizar y el contenido de cada tubo verter en cajas Petri.
- Incubar a 35 ± 2 °C por 48 horas.

- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura.

Contar las colonias que se desarrollan y se anotan el resultado de las placas con mayor número de colonias.

2.3.9.2 Determinación de Coliformes totales.

- **Prueba Presuntiva**

- Pesar 10g de muestra (crema) en un Erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar. De este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} . Dejar reposar 1 hora.
- De esta dilución tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2}
- Colocar 1 mL de cada una de las diluciones en 10 mL de caldo lactosado.
- Incubar por 48 a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana de Durham (fermentación con formación de gas)

B) Prueba confirmatoria

- De los tubos positivos en el caldo lactosado tomar 2 o 3 asadas y sembrar en los tubos 10mL de caldo BRILLA.
- Incubar por 48h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).
- Los resultados se interpretan según el método AOAC.

El número de microorganismos aceptados para este tipo de material es:

Para Coliformes totales:

ACCEPTABLE: 10ufc/mL

INACAPTABLE/RECHAZADO: >11ufc/mL

Esto se realiza mediante los parámetros de referencia de la AOAC y de la OMS 2007

2.3.9.3 Mohos y levaduras (placa petrifilm)

1. Se toma un tubo de ensayo y se colocó 9 mL de agua destilada.
2. Se adiciona al tubo 1mL de muestra previamente homogenizada y se agita fuertemente.
3. Se toma 1 mL de este tubo, y se levantó la película plástica de la placa Petrifilm y se coloca en el círculo esta solución, se bajó lentamente la película plástica de la placapetrifilm cuidando de no formar burbujas.
4. Se contabiliza el crecimiento de hongos y se observó los resultados.

2.3.10 EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE ROMERO, MATICO Y COLA DE CABALLO EN RATONES.

2.3.10.1 Prueba de sensibilidad en piel de ratones.

- Depilación del dorso de cada ratón utilizando una crema depilatoria (Veet)
- Se coloca 0.5mL de cada crema en los grupos de experimentación.
- Luego de 4, 24, 48 y 72h se observa si existe alguna reacción alérgica a la piel.

2.3.10.2 Evaluación de la actividad cicatrizante

- Aclimatación del animal de experimentación por un periodo de 7 días mediante la dotación de alimento según el peso de cada grupo en una ración de 2g de alimento por cada 10g de peso.
- Depilación del dorso de cada ratón utilizando una crema depilatoria (Veet)
- Después de 24 horas de realizada la depilación se procede a inducir la herida, en la región escapular del animal, mediante un corte de una medida de 2cm de largo y aproximadamente 2mm de profundidad utilizando un bisturí.
- Se aplica las tres cremas de romero, matico y cola de caballo, el control positivo

(Procicar), a cada uno de los grupos experimentales, 2 veces al día.

- Se observa los resultados anotando cada día la longitud de la herida.

La actividad cicatrizante se valora de acuerdo a los parámetros detallados a continuación:

Inicio de la cicatrización: Se tuvo en cuenta la actividad de cicatrización en los bordes de las úlceras dado por un discreto edema y enrojecimiento de la zona afectada, provocada por la neovascularización propia del proceso inicial de cicatrización.

Cicatrización moderada: Cuando las características anteriores se observa en un área más extensa de los bordes de la úlcera y se nota la presencia de tejido de granulación en su interior.

Cicatrización completa: Cuando se observa la reepitelización completa de la úlcera y su curación total.

No cicatrización: Cuando no hubo cambios de cicatrización en la lesión.

CAPÍTULO III

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se exponen en cuadros, los datos experimentales y los datos obtenidos en el control de calidad de las drogas crudas, los extractos hidroalcohólicos de las plantas, las cremas, así como la estabilidad del producto final, la inducción, el proceso de cicatrización y la demostración de la actividad farmacológica.

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*)

CUADRO N°1. RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LA DROGA CRUDA. LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.

	ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	MATICO (<i>Piper aduncum</i>)	COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>)	LÍMITES
%				
DE HUMEDAD	10.88	9,85	8,35	Hasta 14%
	10.84	9,83	8,38	
	10.86	9,88	8.41	
	X= 10.86	X=9.85	X=7.38	

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el En el cuadro N° 1. Nos indica que el contenido de humedad en el

romero(*Rosmarinus officinalis*) de 10.86%, matico (*Piper aduncum*) de 9.85% y caballo (*Equisetum arvense*) de 7.38% los cuales se encuentran dentro de los límites establecidos USP # 30, y podemos concluir que las condiciones de las drogas son las adecuadas evitando así, la contaminación microbiana y la degradación de sus metabolitos y también su porcentaje de humedad favorece a la untuosidad del producto final.

**CUADRO N°2 RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE CENIZAS DE LAS DROGAS CRUDAS.
LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.**

	ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	MATICO (<i>Piper aduncum</i>)	COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>)	LÍMITES
% DE CENIZAS TOTALES	7.44	8.95	10.87	Hasta 12%
% DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	3.25	2.93	4.73	Hasta 7%
% DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO	2.8	2.36	3.45	Hasta 5 %

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

El porcentaje de cenizas totales de las especies vegetales es un indicativo del contenido total de minerales en la muestra, es un valor que puede considerarse como una medida de la calidad, y a menudo es un criterio útil para determinar la identidad de la planta. Cuando hay un alto contenido se sugiere la presencia de adulterantes inorgánicos, Las cenizas totales miden el total de residuos sólidos filtrables, solubles en ácidos e insolubles en ácido clorhídrico.

Por lo tanto los resultados obtenidos del cuadro No 2 para el romero es de 7.44%, matico el 8.95% y para la cola de caballo es de 10.87% valores que se encuentran dentro de los límites establecidos la USP # 30 en los que los límites máximos para las cenizas totales es 12%, podemos concluir que no contiene compuestos inorgánicos como

metales pesados.

En el cuadro también se expresa el contenido de cenizas solubles en agua, valores que dan un indicativo de la calidad del vegetal antes de ser utilizadas, que fue 3.25% para el romero, 2.93% matico y 4.73% cola de caballo por lo tanto no contienen compuestos orgánicos.

De igual forma se muestra los resultados para el contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico que es un indicador de materia arenosa, proveniente de la cosecha de las especies vegetales; así para el romero se determinó el 2.8%, para el matico 2.36% y cola de caballo 3.45% los cuales se encuentran dentro del rango límite (7% cenizas solubles en agua y 5% cenizas insolubles en ácido clorhídrico respectivamente), podemos concluir que no existe presencia de residuos de arena ; esta determinación es primordial ya que la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica no deseada. Si en la determinación ha sido elevado el contenido de cenizas puede ser indicador que en la recolección existió contaminación de materia mineral.

CUADRO N°3 RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE SUSTANCIAS SOLUBLES DE LAS DROGAS CRUDAS. LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.

	ROMERO <i>(Rosmarinusoffi</i> <i>cinalis)</i>	MATICO <i>(Piperaduncum)</i>	COLA DE CABALLO <i>(Equisetum arvense)</i>
% SUSTANCIAS SOLUBLES EN AGUA	3.57	2.53	3.78

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

Los resultados expresados en el cuadro N° 3 nos indica que el porcentaje de sustancias solubles en agua determinado a una temperatura de $35 \pm 5^{\circ}\text{C}$ para el romero es de 3.57%, el matico 2.53% y para la cola de caballo es de 3.78%, valores que muestran la cantidad de compuestos de flavonoides que serán responsables del efecto farmacológico de los mismos.

3.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS.

3.2.1 Descripción Organoléptica

CUADRO N°4 RESULTADOS DE LA DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.

DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA	EXTRACTO ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	EXTRACTO MATICO (<i>Piper aduncum</i>)	EXTRACTO COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>)	EXTRACTO GRUPO A	EXTRACTO GRUPO B	EXTRACTO GRUPO C
COLOR	Café oscuro	Verde amarillento	Verde amarillento	Verde amarillento	Verde amarillento	Verde amarillento
OLOR	Herbal fuerte	Herbal un poco picante	Herbal	Herbal fuerte	Herbal fuerte	Herbal fuerte
SABOR	Amargo	Amargo	Amargo	Amargo	Amargo	Amargo
ASPECTO	Líquido fluido	Líquido	Líquido	Líquido	Líquido	Líquido
TURBIDEZ	No	No	No	No	No	No

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N°4 se debe indicar que los parámetros organolépticos de calidad y del extracto fluido no tienen estándares de referencia con los cuales se los puede comparar, ya que estos extractos tienen sus propios valores y características dependiendo de cada especie analizada, de las partes de la planta para asegurar la calidad y la inocuidad.

3.2.2 PARÁMETRO FÍSICO

CUADRO N°5 RESULTADOS DE PARÁMETROS FÍSICOS DE CALIDAD DE EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piperaduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.

PARÁMETROS	EXTRACTO ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	EXTRACTO MATICO (<i>Piperaduncum</i>)	EXTRACTO COLA DE CABALLO (<i>Equisetum arvense</i>)	EXTRACTO GRUPO A	EXTRACTO GRUPO B	EXTRACTO GRUPO C
pH	6.05	5.37	5.97	5.58	5.42	5.36
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1.371	1.367	1.378	1.369	1.365	1.373
DENSIDAD RELATIVA	0.827	0.833	0.987	0.865	0.872	0.934
SÓLIDOS TOTALES	3.434	2.520	3.490	3.281	2.225	3.314

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N° 5 se observa los valores que arrojaron el estudio de los extractos fluidos de romero, matico y cola de caballo estos valores están acordes a las especificaciones de la metodología OMS, pero cabe recordar que son valores para extractos en general y no específicos para cada planta.

El pH expresa la concentración de iones hidronio $[H_3O^+]$ presentes en determinadas sustancias. El pH de la piel es de 5.5 por lo que si nos aplicamos alguna crema, jabón o sustancia con un pH menor o mayor podría causarnos irritación o quemadura. De acuerdo a esta información podemos precisar que todos los extractos, no poseen ningún riesgo para la salud al aplicar tópicamente ya que su pH se encuentra dentro de los rangos permisibles para la piel y por lo tanto posee una alta compatibilidad.

Los resultados del índice de refracción el cual es mayor en el extracto de cola de caballo indica que hay mayor cantidad de sólidos totales los mismos que son responsables de desviar el haz de luz que pasa por la muestra.

También nos muestra los resultados de la densidad relativa que son menos densos que el agua por lo que podemos resaltar que el extracto de cola de caballo presenta la mayor densidad misma que puede ser debido a los taninos compuestos que existen en este vegetal.

De igual forma se muestra los resultados de sólidos totales de lo que se denota que el extracto de cola de caballo tiene una concentración mayor de flavonoides debido a que presenta una alta cantidad de materia seca misma que incide directamente en la actividad farmacológica a comprobar.

3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico nos permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en la droga cruda y extractos de las plantas mediante pruebas de identificación de cambios de color o formación de precipitados que determinen la presencia de metabolitos secundarios para posterior aislamiento de los grupos de mayor interés.

CUADRO N°6 RESULTADOS DE GRUPOS FITOQUÍMICOS ENCONTRADOS EN LA DROGA CRUDA Y LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2012.

METABOLITO/EN SAYO		ROM ERO (<i>Ros marin usoffi cinali s</i>)	MAT ICO (<i>Pipe radun cum</i>)	COL A DE CAB ALL O (<i>Equi setum</i>)	EXT RAC TO ROM ERO	EXT RAC TO MAT ICO	EXT RAC TO COL A DE CAB ALL O	EXTRA CTO GRUPO A	EXTR ACTO GRUP O B	EXTR ACTO GRUP O C
Alcaloi	Dragend	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)	(+++)

des	orff									
Taninos	Cloruro Ferrico	(+)	(+)	(++)	(+)	(+)	(++)	(+)	(+)	(++)
Flavonoides	Shinoda	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)
Triterpenos y/o Esteroides	Liebermann-Buchard	(+)	(+++)	(+)	(+)	(+++)	(+)	(+)	(++)	(+)
Quinonas	Borntager	(++)	(+++)	(++)	(++)	(+++)	(++)	(++)	(++)	(++)
Cumarinas/Lactonicos	Baljet	(-)	(++)	(+)	(-)	(++)	(+)	(+)	(++)	(+)
Saponinas	Espuma	(++)	(+++)	(++)	(++)	(+++)	(++)	(++)	(++)	(++)
Resinas		(-)	(++)	(-)	(-)	(++)	(-)	(-)	(+)	(-)
Azúcares	Fehling	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
Antocianidinas		(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)
Mucilaginosos		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Interpretación: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N°6 nos indica la presencia de las siguientes familias químicas:

Para la droga cruda y en los extractos de romero cualitativamente hay la presencia de alcaloides, flavonoides, quinonas y antocianidinas entre los más representativos, el matico cualitativamente hay la presencia de: alcaloides, flavonoides, triterpenos, esteroides quinonas, saponinas y antocianidinas entre los más representativos, en cola de caballo cualitativamente hay la presencia de alcaloides, taninos y flavonoides entre los más representativos, en el extracto del Grupo A hay la presencia de alcaloides y flavonoides entre los más representativos, en el extracto del Grupo B alcaloides,

flavonoides, saponinas, antocianidinas entre los más representativos y en el extracto Grupo C hay la presencia, de alcaloides, taninos, flavonoides entre los más representativos por lo tanto esta composición fitoquímica nos ayudara con la actividad cicatrizante y antiinflamatoria.

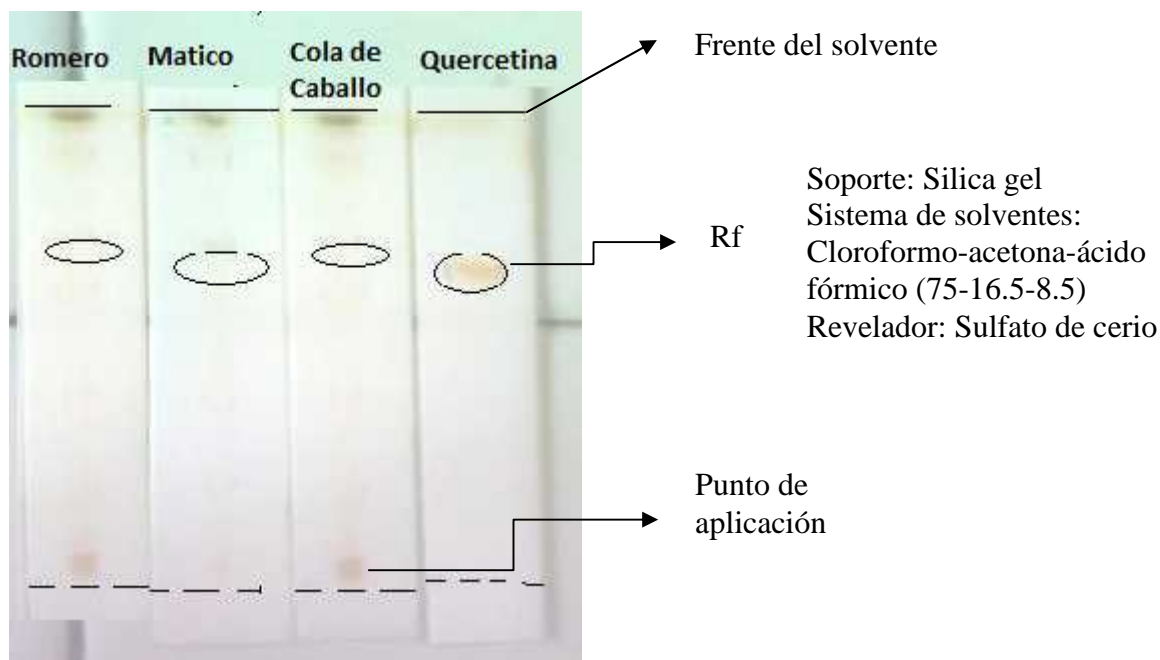
Al comparar los resultados del tamizaje obtenido con referencias bibliográficas éstas concuerdan: Según Mahabir P. el romero contiene quercetina, kaempferol, rutina que se ha demostrado actividad antibacterial y cicatrizante; para el matico se ha identificado compuestos como flavonoides que comparados con referencias bibliográficas, dichos van íntimamente relacionadas con las propiedades farmacológicas como las antibacteriales y medicinales de esta planta, en la colade caballo los resultados obtenidos pueden ser comparados con los de la referencia bibliográfica que existen flavonoides como equisetina, isoquercitrina que contribuirán en la actividad cicatrizante, antibacterial.

3.4 DETERMINACIÓN DE LOS FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFIA

CUADRO N°7 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE R_f DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. DICIEMBRE 2012.

	MANCHAS OBSERVADAS	CALCULO R _f	COLOR
ROMERO	A	R _f =3.2/8=0.4	Amarillo
	B	R _f = 5.3/8=0.66	Amarillo verdoso
	C	R _f =5.5/8=0.69	Amarillo verdoso
MATICO	D	R _f = 4.7/8= 0.59	Amarillo verdoso
	E	R _f =5.3/8=0.66	Amarillo verdoso
COLA DE CABALLO	F	R _f = 2.8/8= 0.35	Amarillo
	G	R _f =5.5/8=0.69	Amarillo verdoso
	H	R _f = 7/8= 0.88	Amarillo
QUERCETINA	I	R _f =5.4/8=0.68	Amarillo

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH



FUENTE: PROAÑO, J. LABORARIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH

FOTOGRAFÍA N° 2 CROMATOGRAFIA DE FLAVONOIDES

En el cuadro N° 7. Se observa los R_f de las manchas en la cromatografía misma que identifican que en el caso del romero las cuales son de color amarillo verdoso que corresponden a compuestos flavonicos siendo el C el amarillo-verdoso de $R_f = 0.69$ similar a la quercetina y A con $R_f = 0.4$ rutina pues encontramos este compuesto en bibliografía, en el matico mancha D amarilla verdosa de un $R_f = 0.66$ siendo eupatorina flavonoide similar a la del estándar de quercetina con un $R_f = (0.68)$ y la macha 3 amarilla verdosa de un $R_f = 0.69$ isoquercetrina similar al estándar de quercetina.

De acuerdo a esta información podemos concluir que existen la presencia de flavonoides determinados por cromatografía de capa fina y comparada con referencias bibliográfica, composición química que ayudara para comprobar actividad cicatrizante.

3.5 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

CUADRO N°8 RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES (%QUERCETINA) EN LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*).LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. DICIEMBRE 2012.

PARAMETRO %	ROMERO	MATICO	COLA DE CABALLO
Flavonoides totales (% Quercetina)	1.87%	0.75%	1.09%

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

Los resultados expresados en el cuadro N° 8 nos indican que existe mayor concentración de flavonoides (% Quercetina) en el romero y cola de caballo, que en el matico lo cual garantiza su acción cicatrizante.

3.6 CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO

3.6.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA

CUADRO N°9 RESULTADOS DE LA DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piperaduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2012.

DETERMINACIONES ORGANOLÉPTICAS	CREMA CICATRIZANTE
ASPECTO	Homogéneo, untuoso al tacto, libre de grumos
COLOR	Amarillo verdoso
OLOR	Herbal
PRESENCIA DE GRUMOS	Negativo
UNTUOSIDAD AL TACTO	Penetrante
PESO	100g

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N°9 nos indica que las características organolépticas de la crema son aceptables al tratarse de un producto natural. El color es amarillo verdoso debido al

color característico de las drogas crudas, la untuosidad al tacto es óptima y no hay presencia de grumos.

3.6.2 DETERMINACIÓN DEL pH DE LA CREMA CICATRIZANTE

CUADRO N°10 RESULTADOS DEL pH DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piperaduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*).LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2012.

Cremas cicatrizantes	pH	LIMITES
GRUPO A	5.5	4-7
GRUPO B	5.4	4-7
GRUPO C	5.3	4-7

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N°10 nos indica que el pH del es ligeramente ácido, lo que favorece a la estabilidad de los compuestos como flavonoides y taninos en constitución de las cremas y no poseen ningún riesgo para la salud al aplicarlas tópicamente ya que su pH es similar al de la piel que es de 5.5 y por lo tanto posee una alta compatibilidad que no genera irritación.

3.6.3 DETEMINACIÓN DE LA EXTENSIBILIDAD DE LA CREMA

CUADRO N°11 RESULTADOS DE LA EXTENSIBILIDAD DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinusofficinalis*), MATICO (*Piperaduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*) DE LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2012.

Cremas cicatrizantes	EXTENSIBILIDAD cm	LIMITES
GRUPO A	4.3	Máximo 5 cm
GRUPO B	4.5	Máximo 5 cm
GRUPO C	4.2	Máximo 5 cm

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N° 11 nos indica que la extensibilidad de la crema se encuentra dentro de los límites establecidos por la USP #30, proporciona una medida del umbral de

formación del sistema, y como parte del estudio reológico de la calidad de la crema para generar una adecuada aplicación de uso tópico para una mejor untuosidad y absorción de la misma.

3.6.4 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DE LA CREMA

CUADRO N°12 RESULTADOS DE LA VISCOSIDAD DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2012.

CREMAS	Viscosidad (centipois)
Grupo A	115.453
Grupo B	117.876
Grupo C	120.982

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N° 12 se indica los valores de viscosidad de las cremas de los diferentes grupos; valores que nos ayudaran para genere mayor untuosidad la forma semilíquida de esta presentación farmacéutica.

3.6.5 TERMORESISTENCIA

CUADRO N°13 RESULTADOS DE LA TERMORESISTENCIA DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2013.

DETERMINACIONES	CONDICIONES DE EXPOSICIÓN		
	AMBIENTE	TEMPERATURA 40°C Y 70°C DE HUMEDAD	
		1 MES	2 MES
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Color	Amarillo verdoso	Amarillo verdoso	Amarillo verdoso
Olor	Herbal	Herbal	Herbal
Presencia de grumos	Negativo	Negativo	Negativo

Untuosidad	Penetrante	Penetrante	Penetrante
ph	5.56	5.63	5.48
Extensibilidad	4.3	4.5	4.8
Viscosidad	120.332	118.874	115.438

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N° 13 nos indica los resultados de la prueba de termoresistencia a una temperatura de 40°C y humedad de 70%, variaciones dentro de los parámetros físicos ni químicos, que no son representativas por lo que se le considera a la crema como estable.

3.6.6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUADRO N°14 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA CICATRIZANTE A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. ENERO 2013.

ENSAYO	RESULTADO	LÍMITES MÁXIMOS ACEPTADOS
AEROBIOS MESÓFILOS	Ausencia	< 10 UFC
MOHOS Y LEVADURAS	Ausencia	

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

En el cuadro N°14 nos indica que se utilizaron los métodos de análisis microbiológico establecido por la USP # 30, para el recuento de aerobios mesófilos, hongos y levaduras, sin observarse ningún crecimiento microbiológico, lo cual nos indica que el producto ha cumplido los parámetros de calidad y se encuentra listo para su comercialización.

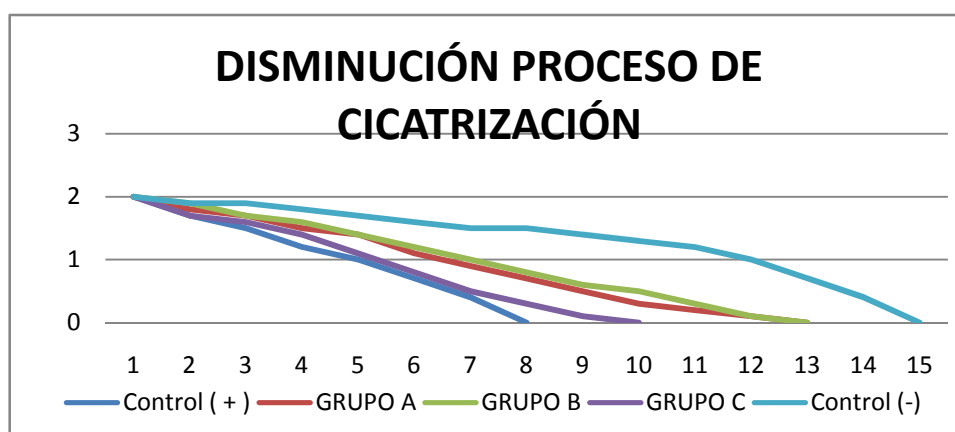
3.7 ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*).

CUADRO N°15 ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LA CREMA A BASE DE LOS EXTRACTOS HIDROACOHÓLICOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. FEBRERO 2013.

DIAS DE CICATRIZACIÓN					
	GRUPOS				
	G 1	G 2	G 3	Medias	Desv. Estándar
A	13	13	11	12	0.70
B	13	12	12	12	0.66
C	10	10	9	10	0.70
CONTROL (+)	7	8	8	8	0.68
CONTROL (-)	14	15	15	15	0.38

ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

GRAFICO N° 01 ANÁLISIS ESTADÍSTICO, DE LA DISMINUCIÓN DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN `APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO DE LA CREMA EN RATONES. FEBRERO 2013.



ELABORADO POR: PROAÑO JANNETH

G= Grupos

A= Ratones con heridas inducidas tratados con crema a base de los extractos (romero 50%, matico 30% y cola de caballo 20%)

B= Ratones con heridas inducidas tratados con crema a base de los extractos (romero 30%, matico 50% y cola de caballo 20%)

C= Ratones con heridas inducidas tratados con crema a base de los extractos (romero 20%, matico 30% y cola de caballo 50%)

Control (+) = Ratones con heridas inducidas tratados con control positivo

Control (-) Ratones con heridas inducidas tratados como control negativo

De acuerdo a los resultados expresados en el cuadro N° 15 el tratamiento que generó mayor efecto cicatrizante con una desviación estándar baja son los ratones del grupo C que se les aplicó el extracto fluido de romero, matico y cola de caballo en una concentración del 20%, 30% y 50% respectivamente misma que tardó 10 días en generar una total cicatrización, a diferencia del resto de tratamientos los cuales tardaron mayor tiempo en cicatrizar.

Estos datos pueden deberse a que el romero y matico posee mayor cantidad de flavonoides, metabolito secundario encargado de la reepitelización de los tejidos y que posee reconocido efecto antibacterial que junto al contenido de taninos presentes en la cola de caballo producen un efecto sinérgico al realizar una mezcla de estos tres extractos en una proporción de 20:30:50 en la crema cicatrizante; reafirmando la mayor efectividad de este.

3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

CUADRO N°16 ANÁLISIS ESTADÍSTICO, APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO DE LA CREMA EN RATONES. FEBRERO 2013.

ANOVA DE UN FACTOR

Anova Un Factor

Número de Casos: 15

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	87.6000	4	21.9000	54.1436	0.0010E-3
Dentro Grupos	4.0448	10	0.4045		
Total (corr.)	91.6448	14			

Se trabajó con análisis de varianzas, test de Anova un factores con interacción; pues existe variable explicativa que son los tratamientos de crema a base de romero, matico y cola de caballo: Grupo A, Grupo B, Grupo C, Control (+) y Control (-) y la variable respuesta que es el tiempo, con el objeto de encontrar la presencia de diferencias estadísticas entre los grupos tratamiento y grupos control, en el cuadro N° 16 se muestra el p-valor que corresponde al estadístico que es 0.0008E-3 es muy pequeño, es decir es menor al valor de significancia que es 0,05 rechazando la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa nos indica que al menos 2 tratamientos son diferentes, que dos tratamientos tienen eficacia al comparar con el control positivo y negativo y que no presentan diferencias estadísticamente significales.

CUADRO N°17 ANÁLISIS ESTADÍSTICO, APLICADO A LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS FARMACOLÓGICO POR COMPARACIONES MÚLTIPLES. FEBRERO 2013.

Número de Casos: 15

Método: LSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
CONTROL (+)	3	8.0000	X
GRUPO C	3	10.0000	X
GRUPO D	3	12.0000	X
GRUPO A	3	13.0000	X
CONTROL (-)	3	15.0000	X

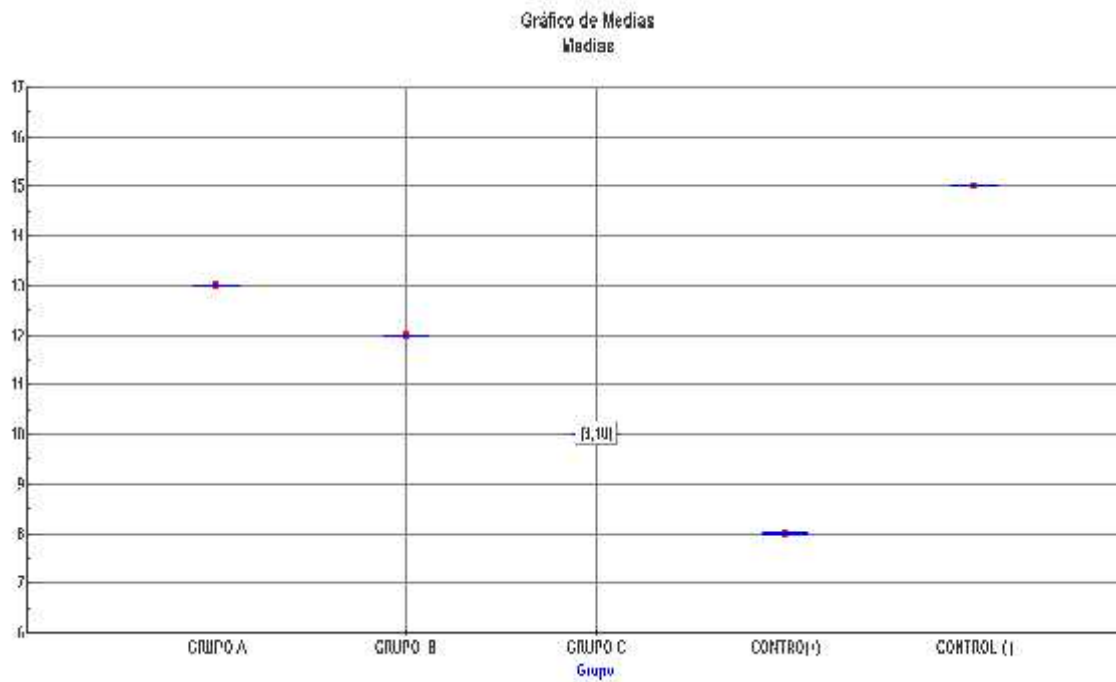
Contraste	Diferencia	+/- Límite
GRUPO A VS GRUPO B	1.0000	1.1570
GRUPO A VS GRUPO C	*3.0000	*1.1570
GRUPO A VS CONTROL (+)	*5.0000	*1.1570
GRUPO A VS CONTROL (-)	*-2.0000	*1.1570
GRUPO B VS GRUPO C	*2.0000	*1.1570
GRUPO B VS CONTROL (+)	*4.0000	*1.1570
GRUPO B VS CONTROL (-)	*-3.0000	*1.1570
GRUPO C VS CONTROL (+)	*2.0000	*1.1570
GRUPO C VS CONTROL (-)	*5.0000	*1.1570
CONTROL (+) VS CONTROL (-)	*-7.0000	*1.1570

* Diferencia estadísticamente significativa.

Luego de haber realizado en el cuadro N°17 el análisis de varianza Anova de un factor antes mencionadas, se obtuvo que existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos utilizados en el experimento, por tal razón se realizó la prueba de comparaciones múltiples a un intervalo de confianza de 95% lo que nos va permitir determinar si los tratamientos son iguales o diferentes.

En el cuadro N° 17, existe 2 tratamientos estadísticamente iguales siendo los Grupo A y B son similares en su actividad farmacológica y significativamente diferentes del Control (+) y Control (-); el Grupo C que tiene mayor efectividad; también se diferencia de los otros tratamientos con lo que se concluye que los tratamientos tienen diferencias entre sí existiendo solo dos grupos que son homogéneos.

GRAFICO N° 02 ANÁLISIS ESTADÍSTICO, DE LA MEDIDA DE MEDIAS APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO DE LA CREMA EN RATONES. FEBRERO 2013.



En gráfico N°01 se representa la medida de las medias en las cual en el eje de las abscisas se encuentra el tipo de tratamiento aplicado y en el eje de las ordenadas se identifica que el tiempo en días que tardó en cicatrizar la herida, concluyendo que el tratamiento con mejores resultados es la crema del Grupo C en una proporción (30:20:50), que tardó 10 días en cicatrizar la lesión la misma que tiene gran similitud con el control positivo (Procicar) que tardo 8 días debido a la presencia de principios activos como es el caso de flavonoides y taninos que ayudan para la actividad cicatrizante, en cambio los tratamientos de los grupos A y B tardaron más tiempo pudiéndose deber a la actividad antibacterial de los principios activos.

CUADRO N°18 PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN DE CADA TRATAMIENTO CON RESPECTO AL CONTROL (-). ESPOCH. FEBRERO 2013.

TRATAMIENTO	DIAS DE CICATRIZACIÓN	PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TIEMPO DE CICATRIZACIÓN
CONTROL(-)	15	100%
CONTROL (+) PROCICAR	8	53.33%
GRUPO A	12	80%
GRUPO B	12	80%
GRUPO C	10	66.67%

En el cuadro N° 18 nos indica que al tomar los resultados del Grupo control (-) como referencia, los 15 días que tardó la cicatrización en este grupo experimental se expresan como el 100% , observándose que al tratar la herida con la crema del Grupo A y B el tiempo de cicatrización se reduce a un 80% ; al aplicar la crema Grupo C el tiempo de cicatrización se reduce a un 66.67%, mientras que aplicando el control (+) (Procicar) la de tiempo de cicatrización con respecto al blanco es del 53%, por lo tanto podemos decir que el tratamiento del Grupo C es similar al control(+) en porcentajes de reducción de cicatrización.

**PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE RATONES (*Mus musculus*) CON
HERIDAS INDUCIDAS
EN LA PIEL**

MUESTRA	EXAMEN MACROSCOPICO	EXAMEN MICROSCOPICO
MACHO CONTROL POSITIVO 1MC(+)	Superficial presenta una herida con bordes limpios y lineales, de hemorragia escasa, dimensión 2.0 cm, de color rojiza	Presencia de tejido fibroso cicatrizal en un 95%
MACHO GRUPO A 7 MGA	Superficial presenta una herida con bordes limpios y lineales, de hemorragia escasa, dimensión 2.1 cm, de color rojiza	Presencia de tejido fibroso cicatrizal en un 92%
MACHO GRUPO B 4MGB	Superficial presenta una herida con bordes limpios y lineales, de hemorragia escasa, dimensión 2.2 cm, de color rojiza	Presencia de tejido fibroso cicatrizal en un 92%
HEMBRA GRUPO C 1HGC	Superficial presenta una herida con bordes limpios y lineales, de hemorragia escasa, dimensión 2.1 cm, de color rojiza	Presencia de tejido fibroso cicatrizal en un 95%
MACHO CONTROL NEGATIVO 2MC(-)	Superficial presenta una herida con bordes limpios y lineales, de hemorragia escasa, dimensión 2.0 cm, de color rojiza	Presencia de tejido de granulación y fibrosis en un 40%

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Se comprobó experimentalmente que la crema a base de los extractos hidroalcohólicos de romero (*Rosmarinus officinalis*), matico (*Piperaduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*) tienen actividad cicatrizante al realizar análisis estadístico y expuesto en con el cuadro N° 17 de comparaciones entre tratamientos.
2. Los resultados obtenidos en el análisis físico-químico, en el control de calidad de las drogas crudas de romero, matico y cola de caballo se pudo determinar que están dentro de los límites de aceptabilidad requeridos por los Organismos Internacionales como la USP 30 y la OMS 1998, según se pudo ver en el cuadro N°1 hasta el cuadro N°3 demostrando así que cumple con las especificaciones de calidad para ser utilizadas en la investigación y por lo tanto no presentan riesgo para la salud.
3. Los resultados de pH, densidad , índice de refracción , sólidos totales y características organolépticas, obtenidos en el control de calidad de los extractos expuestos en los cuadros N° 4 y 5 respectivamente demuestran que están dentro de los valores de referencia y tienen similitud con estudios anteriores realizados.
4. En los extractos fluidos de romero, matico y cola de caballo se concluye la presencia en mayor proporción de varios metabolitos como: flavonoides y taninos

al igual que de otros compuestos como alcaloides, triterpenos, quinonas, saponinas, antocianidinas, cumarinas y resinas, en menor cantidad, de acuerdo al tamizaje fitoquímico realizado sobre dichos extractos, según lo observado en el Cuadro N° 6.

5. El control de calidad al producto terminado cumple con las especificaciones establecidas por lo que se concluye que los excipientes utilizados son los adecuados, representados en los cuadros N° 9 al 13 además se realizó control microbiológico y se pudo determinar los aerobios mesófilos y coliformes totales misma que se encuentran dentro de los parámetros de referencia de la AOAC y de la OMS 2007, concluyendo que poseen óptimas condiciones higiénicas de acuerdo a los indicado en el cuadro N ° 14.
6. De acuerdo al Análisis estadístico test de Anova de un factor aplicado a los resultados finales y a la evolución mediante observación, se concluye que la crema del Grupo C (20:30:50) posee actividad cicatrizante efectiva debido a la presencia de taninos de la cola de caballo ; flavonoides del romero, matico y cola de caballo que al combinarse ejercen un efecto sinérgico y potencian la actividad, mientras que los otros tratamientos Grupo A y B de (50:30:20) y (30:50:20) respectivamente no poseen efecto cicatrizante sino actúan como antibacterianos, indicando detalladamente en Cuadro N° 16,17y 18.
7. Al realizar el estudio de estos vegetales además de la actividad cicatrizante poseen otros beneficios como antibacteriales.
8. Se acepta la hipótesis planteada, ya que las cremas a base de extractos hidroalcohólicos de romero (*Rosmarinusofficinalis*), matico (*Piperaduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*) poseen actividad cicatrizante en heridas cutáneas.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar trabajos posteriores que den seguimiento a esta investigación, para aislar metabolitos de la acción cicatrizante.
2. Se recomienda que mientras se trabaje con animales de experimentación, se deben aplicar BPL en el bioterio para mejorar la manipulación y evitar contaminación.
3. Siempre se debe trabajar siguiendo protocolos para trabajos de investigación, con el fin de identificar lo que se debe realizar y así minimizar al máximo los errores.
4. Se recomienda realizar otras combinaciones en la formulación para mejorar la actividad cicatrizante
5. Se recomienda realizar estudios de los vegetales, pues además de la actividad cicatrizante poseen otros beneficios como antibacterial para aplicación de otros estudios de investigación.
6. Se recomienda realizar estudios de estabilidad a largo plazo y otras más específicas para mejorar la vida útil del producto final.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de Romero (*Rosmarinus officinalis*), Matico (*Piper aduncum*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense*) en ratones (*Mus musculus*) en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

La actividad cicatrizante de la crema se evaluó a través de la inducción de una herida en la región escapular de 15 ratones previamente rasurados, de 2 cm de largo por 2 mm de profundidad realizados con bisturí, para la posterior aplicación de 5 tratamientos siendo estos: Control (+) = Tratados con Crema Procicar, Control (-) = blancos, Grupos A proporción de 50:30:20 Grupo B proporción 30:50:20, Grupo C proporción de 20:30:50 (Dosificaciones) = Tratados con la crema de extractos fluidos de Romero, Matico y Cola de Caballo, administrados en vía tópica por 2 aplicaciones al día durante 15 días.

Los resultados fueron sometidos a un análisis estadístico, para lo cual se aplicó los test ANOVA, T-student, intervalo de confianza del 95%, obteniendo una efectividad 67.7% en Grupo C y de un 42% Grupo A y B se concluyó que la crema Grupo C de una proporción de (20:30:50) posee actividad cicatrizante efectiva en un lapso de 10 días debido a la presencia de flavonoides en las tres plantas y taninos en la cola de caballo que al combinarse mejoran la actividad; los otros tratamientos actúan como antibacterianos tardándose 12 días en cerrar la herida completamente, todos al ser aplicados en forma tópica no presentan efectos adversos a nivel cutáneo.

Se recomienda realizar pruebas de estabilidad más específicas para comercialización de esta crema a base de los extractos hidroalcohólicos de Romero (*Rosmarinus officinalis*), Matico (*Piper aduncum*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense*) por su efectividad ya comprobada.

SUMARY

This investigation was carried out checking the base healing effect of hidroalcoholic extracts of Romero(Plant) (*Rosmarinus officinalis*) Matico(Plant) (*Piper aduncum*) and Cola de caballo (Plant) (*Equisetum arvense*) in mice (*Mus musculus*) in the animal facility at Faculty from Sciences at Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

The cicatrizing activity cream was evaluated through the induction of a wound in scapular place 15 previously shaved mice, 2 cm long and 2 mm deep made with ascalpel, for subsequent application these being treatments 5: Control (+) = Treated Procicar cream, Control (-) = white, Groups A proportion 50:30:20, Group B proportion 30:50:20 , Group C proportion 20:30:50 (dosages) = treated with cream of extracts from Romero, Matico and Cola de caballo (plants), administered topically for 2 applications day for 15 day.

Then the results were subjected to statistical analysis, which was applied to ANOVA test, T-Student confidence interval of 95%, resulting in a 67,7% affectivity in Group C and 42% of Group A and B was concluded that cream of group C (20:30:50) has effective heading activity on 10 days due to the presence of flavonoids in three plants and tannins in ponytail which combined improve the activity, the others act as antibacterial treatments taking 12 days to close the wound completely, all when applied topically in no adverse effects on skin level.

Testing is recommended testing more specific stability for commercialization of this cream-based hidroalcoholic extracts from Romero(plant) (*Rosmarinus officinalis*), Matico (plant) (*Piper aduncum*) and Cola de caballo (plant) (*Equisetum arvense*) already proven its effectiveness.

CAPÍTULO VIII

8.- ANEXOS

ANEXO 1. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA DROGA CRUDA, EXTRACTOS SIMPLES Y COMBINADOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*)



FUENTE: PROAÑO, J. LABORATORIO FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

FOTOGRAFÍA N° 3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO. ESPOCH. LABORATORIO FITOQUÍMICA

ANEXO 2. ANALISIS FISICO-QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*)



FUENTE: PROAÑO, J. LABORATORIO FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

**FOTOGRAFÍA N° 4 ANALISIS FISICO-QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS.
ESPOCH.LABORATORIO FITOQUIMICA**

**ANEXO 3. CONTROL DE CALIDAD DE LA CREMA A BASE DE ROMERO
(*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) Y COLA DE
CABALLO (*Equisetum arvense*)**



FUENTE: PROAÑO, J. LABORATORIO FITOQUIMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

**FOTOGRAFÍA N° 5 CONTROL DE CALIDAD DE LA CREMA. ESPOCH. LABORATORIO
FITOQUIMICA**

**ANEXO 4. INDUCCIÓN AL COMPROBACIÓN DE ACTIVIDAD
CICATRIZANTE EN RATONES**



FUENTE: PROAÑO, J. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

FOTOGRAFÍA N° 6 PROCESO DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE. ESPOCH.
LABORATORIO FITOQUIMICA

CAPITULO VII

7. BIBLIOGRAFIA

1. **ARA, A.**, 100 Plantas Medicinales Escogidas., Madrid-España., Editorial EDAFS.A., 1999., Pp228,229
2. **BORGER, A.**, Cicatrices inesteticas Prevención y Tratamiento., Barcelona-España., Editorial Labor. SA., 1977., Pp 15-30.
3. **BISSET, N.**, Herbal drud and phytopharmaceuticals. A handbook for practice on a scientist basis., Washigton DC-Estados Unidos., Editorial MedpharmSientific., 1994., Pp 567,578
4. **BRADY, R.**, Curso Programado de Anatomía y Fisiología., México DF, México., Editorial El Manual Moderno., Pp34
5. **BRUNETON, J.**, Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales., 2ª Edición., Zaragoza-España., s.edt., 2001., Pp 234-245

6. **CASTILLO, E. y otros.**,Manual de Fitoterapia., Madrid-España., Editorial Elsevier., 2007., Pp 423
7. **CORREA, Q. y otros.**, Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio., s.L., Editorial Pirámide., 1993., Pp 170
8. **CHIEREGHIN P.**,Farmacia Verde: Manual práctico de herboristería., s.L., Editorial Mundi- Prensa.,2000., Pp 238
9. **HUETHER,E y otros.**, Botánica., Washigton DC-U.S.A., Editorial Masby., 2001., Pp1193
10. **DOMINGUEZ, X.**,Métodos de Investigación Fitoquímico., México DF, México., EditorialCimusa., 1999., Pp 161-173
11. **GÓMEZ, F.**,Plantas Medicinales Aprobadas., 2ª ed., Bogota-Colombia., Editorial universidad de antoquia., 2007., Pp 1-5
12. **GRUPO LATINO.**, Manual Curativo de Frutas y Platas Medicinales., Bogota-Colombia., EditorialGrupo Colombia., 2005., Pp 320
13. **LOCKHART, R y otros.**,Anatomía Humana.,s.L., Editorial Interamericana., 1965.,Pp 695

14. **PATÍÑO J.**, Lecciones de Cirugía.,Bogota-Colombia., Editorial panamericana medica ltda., 2002., Pp 31,32
15. **THOMAS B.**, Dermatología en Medicina General., s.L., Editorial Medica Panamericana., 2001., Pp 57
16. **TROTT A.**, Heridas y Cortes: Tratamiento y Sutura de Urgencia., Tercera edición., Zaragoza-España., Editorial Elseviermosby., 2002., Pp 31
17. **CENTRAL ECUATORIANA DE SERVICIOS AGRICOLAS.**, Revista de Botánica., Usos Tradicionales de las especies forestales nativas del Ecuador., Quito-Ecuador., Editorial CESA.,1993., Pp 125
18. **PALOMINO, O.**, Revista de Botánica., Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales., Madrid-España., 2001., Pp 87-93
19. **CANDO, M.**, Comparación del Efecto Cicatrizante de geles elaborados a base de propóleo y caléndula en heridas de conejos., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica de Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba-Ecuador., **TESIS.**, 2005., Pp 65-69

20. **COELLO, R.**, Elaboración y Control de calidad de gel cicatrizante a base de sábila (*Aloe vera*) y caléndula (*Calendula officinalis*)., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica de Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba-Ecuador., **TESIS.**, 2012., Pp 72-78
21. **CRUZ, P.**, Elaboración y Control de Calidad del Gel Antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguetia glutinosa*) y Marco (*Ambrosia arborescens*) para Neo-Fármac., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica de Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba-Ecuador., **TESIS.**, 2011., Pp 86-92
22. **GARCÍA , M.**, Cuantificación de fenoles y flavonoides en extractos naturales., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Universidad Autónoma de Querétaro., Querétaro-México., **TESIS.**, 2012., Pp 1-4
23. **REDROBAN, K.**, Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago mayor*) en ratones (*Mus musculus*)., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., **TESIS.**, 2012., Pp 76-80

BIBLIOGRAFIA DE INTERNET

24. CARACTERISTICAS DEL RATON DE LABORATORIO.

http://es.wikipedia.org/wiki/Rat%C3%B3n_de_laboratorio
2012/06/26

25. HERIDAS Y CICATRIZACIÓN

http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/medicina/cirugia/tomo_i/cap_01_heridas%20y%20cicatrizaci%C3%B3n.htm
2012/06/29

26. HIERBAS MEDICINALES

http://www.fucoa.cl/hierbas_medicinales/hierbas4.php
(26/06/2012)

27. FITOTERAPIA

<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/pdf>
2012/06/26

28. MANUAL DE FITOTERAPIA CRITERIOS DE APLICACIÓN CLINICA DE PLANTAS MEDICINALES

<http://www.bvsde.paho.org/manualesMEC/fitoterapia/cap8.pdf>
2012/06/26

29. PLATAS MEDICINALES

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/barranco_1_sl/capitulo1.pdf

26/06/2012

30. PLANTAS MEDICINALES DE LOS ANDES ECUATORIANOS

<http://www.beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdf/Capitulo%2018.pdf>

2012/06/26

31. RATONES DE LABOATORIO.

http://es.wikipedia.org/wiki/Mus_musculus

2012/06/26

32. COLA DE CABALLO

http://www.hierbitas.com/nombrecomun/Cola_de_caballo.htm

2012/06/26

33. CREMA CICATRIZANTE

[http://es.scribd.com/doc/53746373/71/CREMA-CICATRIZANTE- Acosta-2006](http://es.scribd.com/doc/53746373/71/CREMA-CICATRIZANTE-Acosta-2006)

2012/06/26

34. CREMAS

<http://html.rincondelvago.com/formas-medicamentosas.html>

2012/06/26

**35. EFECTO CICATRIZANTE DEL EXTRACTO ACUAETANOLICO
DE *bocapaprocumbens* en la línea celular 3T3 DE
FIBROBLASTODEL
RATON**<http://itzamna.bnct.ipn.mx:8080/dspace/bitstream/123456789/7502/1/DETEREFECTO.pdf>

2012/06/26

**36. CONTROL DE CALIDAD DE TITURA Y GEL CICATRIZANTE
Y ANTIFLAMATORI A BASE DE CHILCA (*Baccharis
latifolia*) Y HIERBAMORA (*Solanumnigrum*)**
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/216/1/56T00190.pdf>

2012/06/26

37. EXCIPIENTES

<http://sobreelfaro.blogspot.com/2011/08/tema-6-formasfarmaceuticas.html>

2012/06/27

38. EXCIPIENTES

<http://centros5.pntic.mec.es/ies.victoria.kent/rincon-c/curiosid/rc-13/rc-13.ht>

2012/06/27

39. LOS BENEFICIOS DEL MATICO

<http://www.sisepuedeecuador.com/salud/recomendados/6774-los-beneficios-del-matico.html>

2012/06/27

40. PLANTAS CICATRIZANTES

<http://www.asturnatura.com/plantas-medicinales/cicatrizantes.html>

2012/06/26

41. PROPIEDADES DE LA COLA DE CABALLO

<http://www.vitonica.com/dietas/propiedades-de-la-cola-de-caballo>

2012/06/26

42. MATICO

<http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>

2012/06/26

43. MATICO

<http://www.slideshare.net/luyandoo/fitoterapia-en-gastrintestinales>

2012/06/26

44. REPARACIÓN DE

TEJIDOS<http://www.revistasocolderma.com/numeros/marzo08/pdfs/Articulo%20de%20revision%20-%20reparacion%20de%20heridas.pdf>

2012/06/26

**45. EFECTO CICATRIZANTE DE LA CREMA DE EXTRACTO
ETANÓLICO DE CERA DE CAÑA**

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000200002

2012/06/26

46. ROMERO

http://www.natureduca.com/med_espec_romero.php

2012/06/26

47. ROMERO

<http://www.femeninas.com/romero.asp>

2012/06/26